

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

“ACTIVIDAD DIURÉTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO
DE LOS RIZOMAS DE CALAGUALA (*Polypodium picnocarpum*) EN
RATAS ALBINAS”

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico

Farmacéutico y Bioquímico

TESISTAS: JARA MORY NORMA AMELIA

VILLARROEL MELGAREJO ELIZABETH

ASESOR: Mg. PEDRO JACINTO HERVIAS

LIMA- PERÚ

2018

Dedicatoria

A Dios, por hacer posible la realización de esta tesis.

A la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por hacer posible mi profesionalización en la Carrera de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica.

Con todo mi amor y cariño a mi familia, a mi Madre y a mi hermana María, en especial, quienes con sus palabras de aliento lograron en mí ser perseverante en el cumplimiento de mis metas.

A mi amiga Elizabeth y compañeros de trabajo, quienes me brindaron su apoyo durante el tiempo de mis estudios y hacer realidad mis sueños.

Norma

A mi esposo Juan José, por su amor, permanente cariño y comprensión.

A mi hijo Sebastián José y a mis padres, quienes permanentemente me apoyaron con su espíritu alentador para lograr mis metas.

A mi amiga Norma Amelia, por su perseverancia y tenacidad, puesto que sin ella no hubiera podido avanzar.

Elizabeth

Agradecimiento

Al Mg. Químico Farmacéutico, Pedro Jacinto Hervías, catedrático de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega de la Asignatura de Microbiología, por su apoyo incondicional y en todo momento para el desarrollo de este trabajo de tesis, ya que sin sus consejos y dedicación no hubiésemos podido culminar este trabajo.

Al área de Laboratorio de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por el apoyo técnico al desarrollo de la misma.

A la Dra. Laura Villanueva Blas, coordinadora del área de Futuros Profesionales, por el apoyo y aliento en los momentos difíciles, cuando ya no podíamos continuar con nuestra investigación y por alentarnos a seguir adelante, pese a todas las dificultades.

ABREVIATURAS

DL50	Dosis letal cincuenta
UV Vis	Ultra violeta/visible
ISOF	Isoflavonas
ENDES	Encuesta demográfica para la evaluación de Salud
INS	Instituto Nacional de Salud
UCV	Universidad Cesar Vallejo
SIS	Sistema Integral de Salud
OPS	Organización Panamericana de Salud
ABC	Área Bajo la Curva
ANOVA	Análisis de la Varianza
LEC	Líquido extra celular
HAD	Hormona antidiurética

ÍNDICE

Acta de sustentación	
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Abreviaturas	
Índice de tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.1. Descripción de la realidad problemática	3
1.2. Problemas	4
1.2.1. Problema general	4
1.2.2. Problemas específicos	4
1.3. Objetivos de la investigación	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. Justificación	5
1.5. Limitaciones metodológicas	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1. Estado del arte	7
2.1.1 Antecedentes nacionales	7
2.1.2 antecedentes extranjeros	10
2.2 Bases Teóricas y/o legales	16
2.3. Hipótesis	28
2.3.1. Hipótesis general	28
2.3.2. Hipótesis específicas	28
2.4. Definición de términos básicos	28
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	
3.1. Tipo y diseño de investigación	32

3.2. Población y muestra	33
3.3. Equipos, materiales y reactivos	34
3.4. Procedimientos	35
3.5. Procesamiento de datos	41
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	
4.1 Presentación	42
4.2 Discusión	47
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
5.1 Conclusiones	49
5.2 Recomendaciones	50
REFERENCIAS	51
ANEXOS	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de diuréticos empleados en medicina.	20
Tabla 2: Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de los rizomas de Calaguala.	42
Tabla 3: Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de los rizomas de Calaguala.	43
Tabla 4: Grupo de trabajo experimental de actividad diurética.	44
Tabla 5: Dosis letal 50 DL50.	45
Tabla 6: Toxicidad oral a dosis repetidas x 28 días	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (calaguala)	19
Figura 2: Estructura química del manitol	21
Figura 3: Estructura química de la Acetazolamida	21
Figura 4: Estructura química de la hidroclorotiazida	22
Figura 5: Estructura química de la espironolactona	22
Figura 6: Estructura química de la furosemida	23
Figura 7: Estructura química de la teofilina	24
Figura 8: Estructura química de la cafeína	24
Figura 9: Estructura química del cloruro de amonio	25
Figura 10: Extracto hidroalcoholico de los rizomas del <i>polypodium</i> <i>Picnocarpum</i> (calaguala)	39
Figura 11: Prueba de solubilidad	42
Figura 12: Actividad diurética	44
Figura 13: Actividad diurética experimental	45
Figura 14: Toxicidad oral a dosis repetidas x 28 días	46

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia

Anexo 2: Ficha taxonómica

Anexo 3: Informe de adquisición de ratas para trabajo experimental

RESUMEN

La investigación tuvo como propósito determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los rizomas de la planta ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala) en ratas albinas. El diseño contempló lo siguiente: obtención de los rizomas de ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala) en el departamento de Ayacucho, provincia de Huamanga en una cantidad de 5 kilogramos; la utilización de 25 ratas albinas macho de 4 meses de edad de 250-350 g de peso, adquiridos del Bioterio del Instituto Nacional de Salud (I.N.S) Chorrillos Lima, se utilizaron 300 g de rizomas en un litro de alcohol de 70° y después de 7 días se filtró y evaporó el solvente en la estufa hasta obtener el peso continuo. La prueba de solubilidad usó la técnica de Olga Lock, la marcha fitoquímica y la cromatografía en capa fina se realizó con la técnica de Domínguez. Para evaluar la actividad diurética se utilizó el método de Naik y Col con modificaciones. Los resultados demostraron que el extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala) presentan flavonoides, alcaloides, naftoquinonas, saponinas, glicósidos. La dosis de 250 mg/kg, 500 mg/kg, y 1000 mg/kg poseen actividad diurética, siendo esta última la que ofrece mayor actividad en comparación a un estado normal. Como control se utilizó furosemida 20 mg/kg. De esta investigación se puede concluir que el extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala), posee actividad diurética en ratas albinas, y puede ser un tratamiento concomitante para la hipertensión arterial y acumulación de líquidos.

Palabras clave: *Polypodium picnocalyx*, actividad diurética, hipertensión arterial, edema

ABSTRACT

The investigation purpose of determining the diuretic activity of the hydroalcoholic extract of the rhizomes of the plant *Polypodium picnocalyx* (Calaguala) in albino rats. The design contemplated the following: obtaining of the rhizomes of ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala) in the department of Ayacucho, province of Huamanga in an amount of 5 kilograms; the use of 25 4-month-old male albino rats weighing 250-350 g, purchased from the Bioterio of the National Institute of Health (INS) Chorrillos, Lima. For the preparation of the extract, 300 g of rhizomes were used in one liter of 70° alcohol and after 7 days the solvent was filtered and evaporated in the oven until obtaining the continuous weight. The solubility test used the Olga Lock technique and the phytochemical march was carried out using the Dominguez technique. For the phytochemical Screening tests, thin-layer chromatography was performed. To evaluate the diuretic activity, the Naik and Col method with modifications was used. The results showed that the hydroalcoholic extract of the rhizomes of *Polypodium picnocalyx* (Calaguala) has flavonoids, alkaloids, naphthoquinones, saponins, glycosides. The dose of 250 mg / kg, 500 mg / kg, and 1000 mg / kg have diuretic activity, the latter being the one that offers more activity compared to a normal state. Furosemide 20 mg / kg was used as control. From this investigation it can be concluded that the hydroalcoholic extract of the rhizomes of *Polypodium picnocalyx* (Calaguala), possesses diuretic activity in albino rats, and can be a concomitant treatment for arterial hypertension and fluid accumulation.

Key words: *Polypodium picnocalyx* diuretic activity, arterial hypertension, edema

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, tanto en el Perú como en el mundo, el uso de las plantas medicinales en el tratamiento de enfermedades se ha incrementado, debido a la milenaria herencia del uso de estos recursos naturales. Se conoce que el Perú posee una larga historia de conocimientos populares de uso de plantas, transmitidas de generación en generación para el avance sostenible en los procesos de salud de las poblaciones. (1).

La investigación realizada trata de unir el conocimiento folklórico tradicional con el conocimiento científico, puesto que su propósito fue utilizar una planta medicinal ancestral con bondades terapéuticas. Se trata de la planta ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) que es una especie que se cultiva en muchas regiones tropicales y sub tropicales. Sus metabolitos secundarios la hacen importante en el tratamiento de muchas enfermedades.

La característica principal de este estudio radica en demostrar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) y ver su actividad sobre la volemia, con la finalidad de posibilitar el tratamiento de la hipertensión arterial y retención de líquido en el organismo, de manera que se constituya en una alternativa de solución para posibilitar la sostenibilidad de la salud del poblador en comunidades vulnerables de nuestro país.

En este sentido, la presente investigación expresa los planteamientos, proceso y resultados de este estudio en cinco capítulos y las referencias bibliográficas y anexos.

El primer capítulo, aborda el planteamiento del problema de investigación, los objetivos, la justificación y viabilidad de la misma, así como la delimitación espacial y temporal.

El segundo capítulo, desarrolla el marco teórico, consignando los antecedentes de la investigación, las bases teóricas, la formulación de las hipótesis, las variables e indicadores y los términos básicos.

El capítulo tercero, comprende la metodología de la investigación haciendo referencia al tipo y diseño de investigación, la población y la muestra el estudio y las técnicas e instrumentos de recolección y procesamiento de los datos.

El cuarto capítulo, hace al análisis y discusión de los resultados.

Finalmente, el capítulo quinto, presenta las conclusiones y recomendaciones.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

El interés por tratar la hipertensión arterial es cada vez más urgente, sobre todo en aquellos países donde la carga laboral y el estrés son persistentes. Se trata de una enfermedad silenciosa difícil de controlar y de pronóstico mortal.

El Perú realizó en el año 2016 la encuesta de demografía para evaluar la salud pública (ENDES)", en personas con hipertensión arterial. Sus resultados arrojaron que el 18% de la población peruana es hipertensa y que solo el 25% de la población cuenta con los recursos para el tratamiento de la enfermedad; el 75% no sabe que sufre de hipertensión, ni siquiera está inscrito en el Sistema Integral de Salud (SIS), teniendo riesgo inminente de complicaciones renales, trastornos cardiovasculares, cerebrales o daño a otros órganos vitales. (2)

La hipertensión arterial se debe al incremento del gasto cardiaco, la presión arterial elevada y aumento de la volemia. Modificando uno de estos factores se puede controlar la hipertensión arterial.

Por medio de preparaciones fitoquímicas es posible modificar la volemia. Existen plantas que actúan como diuréticos.

Numerosos estudios realizados en toda América han dado a conocer las plantas nativas que pueden controlar la hipertensión arterial mediante su acción diurética. (2)

Evaluar estos aspectos y otros en este campo, nos lleva a proponer la utilización de agentes diuréticos naturales, que no solamente sean eficaces sino también seguros. Por ello, la utilización de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) en pacientes que presentan hipertensión arterial y retención de líquido podría tener utilidad terapéutica, para mejorar su calidad de vida.

1.2. Problemas

1.2.1. Problema general

¿El extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala) presenta actividad diurética en ratas albinas?

1.2.2. Problemas específicos

1.- ¿Qué metabolitos presenta el extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala)?

2.- ¿Cuál será la dosis efectiva del extracto hidroalcohólico en los rizomas de ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala) en la cual se presenta el efecto diurético esperado?

3.- ¿Cuál es la dosis letal media (DL50) del extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala)?

4.- ¿Cómo será la toxicidad oral a dosis repetidas del extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala)?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocalyx*** (Calaguala) en ratas albinas.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Identificar los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de

los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala)

2. Determinar la dosis efectiva del extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) en la cual se presenta el efecto diurético esperado
3. Determinar la dosis letal media (DL50) del extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala)
4. Determinar la toxicidad oral a dosis repetidas del extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala)

1.4. Justificación

Las enfermedades asociadas a la acumulación de líquidos constituyen una situación de alerta de salud, siendo el Perú uno de los países con una incidencia muy alta de estas enfermedades, según datos recogidos por la Organización Peruana de la Salud (OPS), presentándose en las diferentes edades y estratos sociales debido a los hábitos alimenticios que ha modificado el metabolismo, llevando a la población a consecuencias mortales o consecuencias que llevan a causar incapacidad (2).

La investigación es importante porque el sistema de salud no cuenta con la cantidad de medicamentos para la población (1) y estos no llegan a todos los rincones del país; además, se debe continuar con la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas y puesto que esta beneficiaría a la población más necesitada de la ciudad de Lima y del interior del país.

Es novedosa, porque en la investigación se utiliza una especie vegetal que crece en las alturas a 2200 msnm, en la provincia de Huamanga,

departamento de Ayacucho de nuestro país, con la cual se evaluará la actividad diurética.

Es factible y viable, puesto que se cuenta con la especie biológica de estudio, asimismo, la Universidad cuenta con todos los materiales, reactivos y equipos para su desarrollo, permitiendo así la culminación exitosa de la fase experimental.

Es de interés porque se cuenta con referencias de personas con edemas y retención de líquidos que viven en la provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, quienes mencionan haber consumido el jugo de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) y que se sintieron mejor; en la investigación se demostró que el extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) posee efecto diurético, el cual posibilitaría el mejoramiento de la calidad de vida de la población del Perú y a nivel mundial.

1.5. Limitaciones metodológicas

La dificultad para conseguir la especie botánica en su hábitat, ya que se encontró en una zona agreste cuya altitud superaba los 2000 msnm, siendo necesario un guía para su localización.

La dificultad para acondicionar un espécimen vegetal de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) que pudiera resistir las condiciones del viaje y llegar sin deterioro, de manera que pueda realizarse la taxonomía y parte experimentación.

La falta de un Bioterio para desarrollar la parte experimental y demostrar la actividad diurética de la especie vegetal en estudio.

El no contar con reactivos fiscalizados para realizar la marcha fitoquímica.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Estado del arte

2.1.1 Estudios nacionales

Cardenas M. Quintana P. (2017) Evaluaron el efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* (Tara) y del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* c. (Calaguala) en cepas *Escherichia coli* o104:h4, fue el motivo de este estudio. Se usaron vainas de *C. spinosa* previamente procesadas. Se pesaron 50 gr. de polvo de las vainas de *C. spinosa*, se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar y se le agregó 200 mL de agua, dejándose macerar por 1 semana, agitándose todos los días. El producto fue filtrado 3 veces. Se llevó nuevamente a la estufa y el residuo se colocó en un frasco de vidrio, se prepararon concentraciones de 2% 5% 10% 15% 20%. Las que fueron guardadas en frascos color ámbar estéril y conservado en refrigeración hasta el momento que dichas concentraciones sean colocados en discos de papel de filtro para probar su efecto antibacteriano. El extracto acuoso de tara y del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* c. (Calaguala) no tiene efecto antibacteriano sinérgico. (3)

Moreno G, Quiroz R. (2018) El objetivo de la investigación fue evaluar el índice de irritabilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phymatosorus grossus*. La metodología usada para la determinación del índice de irritación fue Het- Cam. Con 300 gramos de hojas secas se preparó el extracto y con el extracto se prepararon 4 concentraciones al 5%, 2%, 1%, 0.5%. Resultados: Al desarrollar el estudio sobre nuevas técnicas experimentales llamado índice de irritabilidad por el método del Het- Cam del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phymatosorus grossus*, se pudo determinar que el extracto es muy soluble en agua y etanol, soluble en metanol y poca solubilidad en acetona. Los metabolitos encontrados fueron: Flavonoides, Alcaloides, naftaquinonas, antraquinonas y antranonas, saponinas y glicosidos. Resultados: Se trabajó con grupos control de Hidróxido de sodio al 0.1N, lauril sulfato de sodio al 1% y suero fisiológico;

también se evaluó la actividad del solvente en las membranas corioalantoidea de huevos fértiles de gallina (*Gallus gallus domesticus*), con 8 días de incubación artificial. Los resultados del método HET – CAM del Extracto alcohólico de *Phymatosorus grossus*, demostró a la concentración del 0.5% un índice de irritación de 2,28 calificándose como irritante leve. Conclusiones: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Phymatosorus grossus* al 0.5% demostró tener un índice de irritación leve y es propicia esta concentración para la elaboración de formas farmacéuticas como geles, cremas, lociones. (4)

Martínez, E. (2014): “Efecto antihipertensivo del extracto etanólico de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto". El objetivo fue determinar el efecto antihipertensivo del extracto etanólico de los frutos *Physalis peruviana* L. "aguaymanto," estudiando a diferentes concentraciones, lo cual fue realizado en el Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de enero a junio del 2015. La muestra vegetal fue recogida en la localidad Quiturara del distrito de Huamanguilla Huanta, departamento de Ayacucho. El método empleado fue de Miranda y Cuellar, y se realizó reacciones de coloración y precipitación. Los metabolitos secundarios que fueron identificados en el extracto etanólico de frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" fueron flavonoides, taninos, fenoles, catequinas, alcaloides, saponinas, lactonas y/o cumarinas, cardenólidos, esteroides y triterpenos y azúcares reductores. Se indujo hipertensión, a 40 ratas de raza *Holtzman* de peso promedio de 250-300 g. se dividieron en ocho lotes de cinco ratas cada uno respectivamente, y recibieron captopril y losartán. La administrados duro 10 días como indica el método de Rojas y Armas; los datos se evaluaron mediante la prueba de Tukey, Dunett y Anova

Se concluyó que el extracto etanólico de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" tiene efecto antihipertensivo. (5).

Castillo, S. y Castillo, E. (2014): Realizaron un estudio para evaluar el “Efecto diurético de la ortiga, *Úrtica dioica* y los niveles de excreción de sodio en *Rattus rattus albinus*”. El objetivo fue evaluar si *Úrtica dioica* L. (ortiga) hidroalcohólico aumenta los niveles diuréticos y la eliminación de electrolitos. En el presente

estudio fue necesario emplear 30 ratas las cuales se le privaron de alimento y agua por 18 horas antes del inicio del ensayo y durante las 6 horas de la prueba. Se separan en tres grupos de estudio según modelo propuesto. Los resultados del estudio demostraron que *Úrtica dioica* provoca un nivel de excreción de orina de 11.83 mL lo que lo hace significativo si se compara con los otros grupos de estudio. Sobre la eliminación de sodio en esta prueba el extracto acuoso de *Úrtica dioica* alcanzó una estadística favorable, en comparación con los otros grupos analizados. Se concluye, por esta investigación, que el extracto acuoso de *Úrtica dioica* demuestra efectos diuréticos en animales de experimentación. (6).

Castillo, S. et al. (2011): Evaluaron la actividad diurética y la eliminación del catión sodio con el extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus niruri* "chanca piedra" sobre ratas albinas V. el objetivo fue dar a conocer el efecto diuretico que presenta el extracto hidroalcohólico de *Phyllanthus niruri* (Chanca piedra) empleando ratas *Rattus rattus varo albinus*. Se midió la excreción urinaria y electrolitos. El modelo experimental propuesto empleo ratas en ayuno. Para este estudio se separaron las ratas en diferentes grupos de análisis, administrando a un grupo suero fisiológico 8 mg/kg a otro grupo un control con hidroclorotiazida 10 mg/kg el cual es un diurético comercial y al otro grupo se le administro el extracto hidroalcoholico de *Phyllanthus niruri* (Chanca piedra). Los resultados de la parte experimental reportaron un nivel de diuresis para la muestra de estudio de 10,2 mL, este valor es mayor al obtenido por el suero fisiológico 4.65 mL y el medicamento de referencia 8.30 mL, alcanzando un valor estadísticamente significativo. (7).

Apesteguía, J. (2009): Evaluó el fruto de limón para demostrar el efecto diurético del zumo. Para el presente estudio se usó el método de Naiv V. R et al (1981) debido a que es el mejor método para evaluar la capacidad de medir diuresis. Este estudio empleó ratas hembras de aproximadamente 250-270 g de cepa Holtzman. Las dosis administradas fueron 180 mg/Kg, 540 mg/Kg y 900 mg/Kg de peso corporal en un volumen de 25 mL/Kg, se preparó un grupo de ratas y se administró suero fisiológico a dos grupos a los cuales se les administraron diuréticos comerciales. El modelo experimental para recolectar la orina fue de

30, 60, 90, 180, 270 y 360 minutos. Los resultados demostraron que, tras la administración del zumo del fruto del limón, se incrementó el volumen de diuresis en comparación con los fármacos de referencia. Al realizar la prueba de dosis letal DL50, se determinó que a 5,000 mg/kg es perjudicial su uso. Se concluye que el zumo del fruto del limón produce un incremento de electrolitos y volúmenes urinarios y es seguro administrar hasta una dosis de 5,000 mg/Kg en una sola toma en 24 horas (8).

Wren R. (2004): Evalúa la actividad de la Calaguala, explicando que estas plantas tienen propiedades “expectorante, además de ser un tónico anti dispéptico y contra la inapetencia.” También realizó una investigación sobre otras propiedades que pudiera tener esta planta, encontrando que posee además propiedades sobre enfermedades de la piel, pero presenta efectos adversos como picazón, de naturaleza benigna. El trabajo de investigación informa que los rizomas de calaguala preparados en infusión, pueden ser usados en pacientes con afecciones gástricas o que padecen problemas respiratorios y cardíacos. (9).

Corrales H. (2004): Realizó una investigación con el helecho Calaguala, demostrando su propiedad curativa sobre enfermedades de la piel (psoriasis): “El extracto obtenido de las hojas no difiere de los rizomas en lo referente a su toxicología y efectos farmacodinámicos en animales de experimentación. Además, en un estudio clínico demostraron las propiedades antipsoriáticas del extracto de las hojas”. Los estudios realizados por Corrales demostraron que dentro de las actividades terapéuticas que tiene esta planta se encuentra la de ser depurativa, siendo utilizada en enfermedades dermatológicas como eccemas, acné, dermatitis, psoriasis. (10).

2.1.2 Antecedentes extranjeros

Guevara T. (2011) determinó la eficacia in vivo de un gel para el acné a base de *Campyloneurum amphostenon* (Calaguala). Para lo cual realizó la extracción de los componentes activos de la planta seca mediante percolación y su respectivo

control de calidad tanto físico-químico como microbiológico. La elaboración del gel se lo realizó con el extracto y excipientes los cuales fueron sometidos a pruebas de control de calidad. La cuantificación del marcador químico se realizó mediante método espectrofotométrico obteniéndose resultados positivos. La evaluación de la eficacia in vivo en 40 personas voluntarias, fueron sometidas a un riguroso tratamiento por ocho semanas mediante controles semanales de conteo de granos y por simple visualización, y se comparó frente a un producto comercial llamado OXY. El control de calidad se realizó de acuerdo a lo especificado en la Norma Ecuatoriana de Fitofármacos y la Farmacopea Americana XXVIII. Por lo tanto, se demostró que existe una considerable mejora en las personas afectadas por dicha enfermedad y disminución de los granos producidos por el acné. Lo que afirma eficacia terapéutica. Los investigadores recomendaron realizar pruebas de estabilidad acelerada con el fin de alargar la vida útil del producto (11)

Barrera A. (2015): Evaluó la actividad diurética del extracto de *Chuquiraga jussieui* chuquiragua en ratas *Rattus norvegicus* (ratas), demostrando la diuresis producida por este extracto vegetal. Al desarrollar el screening fitoquímico, identificaron la presencia de metabolitos secundarios como: flavonoides, triterpenos y/o esteroides, alcaloides, azúcares reductores, fenoles, principios amargos y compuestos grasos, saponinas, taninos, mucílagos. Se aisló por cromatografía fina los flavonoides y se cuantificó flavonoides totales con estándar de rutina y por la técnica de $AlCl_3$. El modelo experimental lo conformó 15 ratas (*Rattus norvegicus*), en un peso de 200 a 300 g fueron divididas en 5 grupos de 3 individuos cada uno: el blanco fue suero fisiológico, el control positivo fue furosemida (20 mg/Kg) y las muestras de estudio se dividieron en 3 concentraciones (100 mg/Kg, 200 mg/Kg, 400 mg/Kg). Para determinar la actividad diurética midieron el volumen de orina expulsada *en una unidad de tiempo*. El estudio demostró que el extracto de *Chuquiraga jussieui* (*Chuquiragua*) posee efecto diurético en todas las concentraciones estudiadas, siendo la concentración mayor (400 mg/Kg) la que alcanzó un mayor volumen de diuresis con un 68%. En conclusión, el extracto de *Chuquiraga jussieui* (*Chuquiragua*) posee actividad diurética a todas sus concentraciones. (12).

Noriega A. (2015): Realizó la “determinación de varias especies de *Citrus* (*reticulata*, *paradisi*, *aurantifolia*) y evaluó el efecto diurético del extracto acuoso de mandarina, toronja, lima”. El propósito de esta evaluación fue validar farmacológicamente la actividad diurética y validar el proceso. Se obtuvo el extracto acuoso. La técnica diurética estuvo basada en el protocolo descrito por Naik y col, modificado por Saravia. El modelo utilizó 36 ratas albinas, de 200 a 300 g de peso machos en buen estado de salud. Se diseñaron 3 grupos uno por planta, cada planta fue estudiada con 12 ratones subdivididos en 4 grupos de 3 sujetos de estudio. Las concentraciones de las muestras de estudio estuvieron comprendidas entre de 0.75 y 1.0 g/Kg de peso, el control fue furosemida a 25 mg/Kg de peso y el blanco fue suero fisiológico. Se midió la frecuencia de micciones a las 2, 4 y 6 horas de intervalo y se cuantificó el volumen de orina con una probeta. Los resultados reportaron que el extracto acuoso de (*Citrus reticulata*), Lima (*Citrus aurantifolia*) y toronja (*Citrus paradisi*) no poseen efecto diurético en los grupos de estudio a ninguna concentración 750 y 1000 mg/Kg. (13).

Segundo, F. et al. (2014): Desarrollaron una investigación para evaluar el efecto diurético de *Urtica dioica* (*Ortiga*), y los niveles de excreción de sodio en *Rattus Rattus albinus*.” Se utilizó en extracto hidroalcohólico en ratas albinas. Para el estudio, se empleó 30 ratas que fueron privados de alimento durante 18 horas antes de iniciado el experimento y 6 horas posteriores al mismo. Se formaron grupos de investigación. A todas las ratas se les administró solución salina. A un grupo se administró hidroclorotiazida a la concentración de 0.01g/Kg/pc de extracto hidroalcohólico de ortiga. Los resultados demostraron que el grupo C presenta mayor índice de diuresis respecto a los otros grupos de investigación, grupo. Al cuantificar los niveles de electrolitos alineados se encontró que el sodio fue expulsado en grandes cantidades. Se concluye que *Urtica dioica* presenta efecto diurético y aumenta los niveles de excreción de sodio en *Rattus rattus var. albinus*. (14).

Naranjo A. (2013): En su estudio desarrolló la evaluación de la actividad diurética y la cuantificación de polifenoles de *Hibiscus sabdariffa l*, cultivada en Pomona, Pastaza-Ecuador”. Su objetivo fue dar a conocer si estas especies

vegetales tienen potencial diurético para ser utilizados como fármacos. En este trabajo se cuantificó los polifenoles, responsables que según el autor son los responsables de la actividad diurética; la determinación fue por espectrofotometría Uv. Vis. Se preparó un macerado con la planta y se obtuvieron concentraciones de la muestra en estudio de 10 mg/Kg, 20 mg/Kg, 30 mg/Kg, 40 mg/Kg y 80 mg/Kg. La administración del macerado en los grupos de estudio fue por vía oral usando una sonda gástrica del tipo 7, luego fueron acondicionadas en jaulas metabólicas de manera individual para recolectar la orina y medirla. La estadística inferencial se realizó por Anova. Los resultados demostraron que los polifenoles presentes en las muestras administradas a diferentes concentraciones, presentaron efecto diurético (20 mg/Kg de polifenoles, se tiene 47% de diuresis) valor significativo en comparación con el control positivo. (15).

Alviz A. et al. (2013): Evaluaron la acción del extracto etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (Hook) usando como sujetos de experimentación ratas albinas, el objetivo fue evaluar el efecto diurético utilizando dosis repetidas a corto plazo. Para ello se obtuvo dos tipos de extracto: acuoso y etanólico. Estos extractos fueron obtenidos mediante el método de cocción usando una temperatura de 60° por 15 minutos. Una vez obtenida los extractos, se sometieron a análisis fitoquímico de solubilidad, marcha fitoquímica, prueba en animales, estudios histopatológicos tras la administración de una semana a dosis de (1.000 mg/kg). La especie biológica de estudio fueron ratas Wistar, a las cuales se le administraron dosis de (500 mg/kg), en forma aguda y en dosis repetidas a corto plazo. Para cuantificar la presencia de sodio y potasio se usó la técnica de espectrofotometría de absorción atómica y para la determinación de cloruros la técnica mercurimétrica de titulación. La administración de ambos extractos, demostraron un incremento en la eliminación de los niveles de sodio y potasio al ser comparados con el control; cuando se administraron dosis repetidas al modelo experimental, no se obtuvo los mismos resultados; se observó la presencia de diuresis sin la eliminación de electrolitos. Al evaluar estudios histopatológicos, los resultados reportaron que no hay evidencias de toxicidad a nivel hepático o renal. Se concluye que extracto etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (Hook) posee actividad diurética. (16).

Martínez S. et al. (2012): Realizaron una investigación para evaluar la actividad diurética de (*Morinda citrifolia* L.) Noni-C. Para este estudio fue necesario emplear ratas machos, peso aproximado de 230, 260g, variedad wistar. Se prepararon 5 modelos de estudio: G1 Furosemida (20 mg/kg), G2 Cloruro de sodio, G3 Muestra al 100 mg/Kg, G4 Muestra al 200 mg/Kg, G5 Muestra al 400 mg/Kg. Los animales fueron colocados en jaulas metabólicas especialmente acondicionado para la prueba y se procedió a recolectar la orina en 24 horas. A esta muestra de orina se realizó la cuantificación de Na^+ , K^+ y Cl^- . Posteriormente se midió el volumen de las muestras de Noni-C a la dosis de 200 y 400 mg/kg los valores de diuresis fueron 30,15 mL y 34,25 mL en las 24 horas de tratamiento. Al evaluar los resultados de diuresis con la dosis de furosemida, los valores de orina obtenidas fueron de (39,35 mL/24 h). Se concluye que tras la administración de Noni-C (*Morinda citrifolia* L.), este producto demuestra capacidad diurética a las concentraciones de 200 y 400 mg/kg (17).

Daud A. et al. (2007): Realizaron una investigación sobre *Polylepis australis Bitter* (Queñoa)". Para demostrar el efecto diurético, fue necesario la elaboración de extractos acuosos. El estudio empleo ratas Wistar. Las muestras problemas G1 fue dosificada a 200 mg/Kg y la G2 fue dosificada a 400 mg/kg. El modelo de cuantificación de sodio y potasio fue por el método de espectrofotometría de absorción atómica volumen de diuresis fue medido en probetas. Se observó un incremento de la diuresis con el *Polylepis australis Bitter* (Queñoa)", en comparación con el control, que fue los diuréticos tiazídicos. Estos resultados demuestran la creencia popular de que la Queñoa es diurético. Los resultados demostraron potencial diurético a la concentración de 200 y 400 mg/Kg (18).

Ramírez, J. Mauricio, O. (2006): Realizaron una investigación con la finalidad de determinar el "Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas". El propósito fue determinar la diuresis y la concentración de los electrolitos eliminados, utilizando como modelo ratas albinas. El modelo de investigación empleo 24 ratas machos, Sprague-Dawley, sanos, alimentación balanceada, pesos similares. Se formaron 4 grupos: un control negativo a los cuales se le administró suero fisiológico, un control positivo al cual se administró furosemida (10 mg/kg), dos grupos con muestra de estudio al 1 y 2 g/kg, respectivamente.

Determinado el peso de los animales se estableció que la dosis de estudio 25mL/Kg de peso. “La administración de *S. scutellarioides* en dosis de 1 y 2 g/kg incremento la diuresis al ser comparado con el grupo control. El *Salvia scutellarioides* presenta actividad diurética y puede utilizarse en prevención de la hipertensión arterial. (19).

Hernán, J. et al. (2006): Realizaron una investigación para determinar el efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas. Evaluaron la concentración de cationes, en un total de 24 ratas Sprague-Dawley. De evaluación se empleó una distribución homogénea con 4 grupos: G1 Suero fisiológico. G2 Furosemida como fármaco de referencia a 10mg/kg en G3 recibió una concentración de 1g/Kg y el G2 recibió una concentración de 2g/Kg. Para homogenizar el tratamiento todos los animales de experimentación recibieron 25 ml/Kg de peso. Luego de la inducción, las ratas fueron colocadas en las jaulas metabólicas acondicionadas especialmente para esta prueba durante seis horas y se procedió a medir la orina. La administración de *Salvia scutellarioides* a una concentración de 1 y 2 g/kg provoco el aumento de la diuresis, al ser comparado con el grupo control se obtuvo un ($p < 0,01$). El incremento de la diuresis se evidenció a las 4 horas post administración, incrementándose también la eliminación del catión de sodio y potasio. Se concluye que la información aportada por los médicos tradicionales que usan esta planta con fines terapéuticos no está del todo alejada de la realidad, ya que la diuresis se presentan post administración, con lo cual puede ser útil en el tratamiento de edemas e hipertensión arterial (20).

Jiménez, L. et al. (2004): Llevaron a cabo una evaluación experimental empleando el extracto fluido de *Xanthium strumarium* L. en solución hidroalcohólica al 60% en ratas Wistar, para medir la actividad diurética. Se desarrolló un modelo y se probaron 3 concentraciones de muestra problema: de G1 100 mg/Kg, G2 200 mg/Kg y G3 400 mg/kg. Para tener un control positivo se empleó un fármaco diurético de Asa (furosemida) a una concentración de 5 mg/Kg. Las ratas fueron colocadas en jaulas metabólicas y se midió cada 60 minutos la excreción urinaria, el tiempo estimado fue de 6 horas. Las

concentraciones de estudio reportaron un efecto diurético y una eliminación de electrolitos de sodio y potasio, similar a los reportados por la furosemida. (21).

Hernández, J. et al. (2003): Realizaron una investigación a fin de determinar la actividad diurética de hoja de *Cimbopogon cytratus*. Este estudio empleo ratas machos R-Loty, se formaron tres grupos homogéneos de trabajo al 10, 20 y 50 %, un grupo para control positivo con furosemida y un grupo para el control negativo con suero fisiológico.

Al grupo control positivo se administró 1 mg de furosemida, al grupo control negativo se le administró suero fisiológico y al grupo experimental se aplicó soluciones preparadas a partir de extractos fluidos de *Cymbopogon citratus* obtenidos al 30 y 70 % en alcohol etílico. Se compararon los resultados del grupo experimental con los grupos control negativo y control positivo mediante pruebas de comparación de medias de 2 grupos independientes. No se encontró significación en los resultados del grupo experimental, pero si se hallaron ligeros efectos que coinciden con otros investigadores. (22).

2.2. Bases teóricas y/o legales

La Calaguala

Descripción diurética:

Nombre científico: *Polypodium picnocarpum*.

Nombre popular español: Calahuala, Calaguala, polipodio.

Nombre portugués: avenca dourada. Inglés: fern. Francés: Calaguala.

Bajo la denominación de Calaguala se denominan a varias especies de *Polypodium*, que pueden ser: *Polypodium aureum* L, *Polypodium decumanum* Willd, *Polypodium leucotomos* Poir. Estas plantas muy parecidas entre sí desde el punto de vista botánico, poseen una enorme diferencia desde el punto de vista farmacológico. Calaguala es un helecho de la familia de las polipodiáceas; presenta rizoma rastrero el cual tiene una forma cilíndrica con textura escamosa y que presenta tricomas brillantes. Las hojas presentan forma redondeada

ovoide. Esta planta está catalogada en el grupo de plantas primitivas ya que nunca florecen. (23).

Hábitat

En el Perú se conoce a la Calaguala sobre todo en el departamento de Ayacucho específicamente en la provincia de Huamanga, donde los lugareños hacen uso de este rizoma. En Centro América también es conocida; los pueblos mesoamericanos como México, Guatemala han conocido del poder terapéutico de esta planta, el empleo medicinal ha llegado hasta Bolivia y Brasil donde se usa en múltiples tratamientos y ceremonias costumbristas. Es una planta que no necesita de muchos recursos para desarrollarse, se la ha encontrado en suelos rocosos, arenisca, suelos cubiertos de fango, a alturas comprendidas entre 2100 y 3100 msnm. Debido a su aclimatación y resistencia puede ser aprovechada. Para tratar muchas enfermedades. Honduras y Guatemala lideran el número de plantaciones de este recurso vegetal.

Historia

La medicina tradicional de los pueblos mesoamericanos ha utilizado la calaguala en sus ceremonias rituales y chamanísticas (24), en el Perú calaguala significa adorno juvenil (voz quechua). Los pobladores del antiguo Perú la usaron en múltiples dolencias, las empleaban en rituales de danzas y eran colocadas ornamentalmente en las habitaciones de las jóvenes doncellas por su atractiva forma y para adornar la habitación. Uno de los primeros reportes oficiales sobre la Calaguala se le atribuye a Willd en 1810 quien hace un informe amplio sobre esta planta. Posteriormente en 1967, Horvath y col al estudiar más profundamente las propiedades de esta planta, lograron extraer del rizoma un heterosido al cual se le denominó Anapsos.

Parte utilizada

La Calaguala puede ser usada en su totalidad, pero se prefiere el uso de los rizomas y hojas. La presencia de osladina le da un sabor dulce, pero también hay calagualas de sabor agrio.

El rizoma de calaguala puede presentar la siguiente composición: esteroides: ecdisterona, ecdisonas (una de ellas conocida como polipodoaureína). La α -ecdisona es un esteroide aislado inicialmente en palomillas de gusanos de seda. Saponinas: calagualina (heterósido compuesto por glucosa fructosa y una aglicona triterpénica), polipodinas A y B. Otros: mucílago (desoxihexosa), oleorresina, nitrato de potasio, osladina y almidón.

Acciones farmacológicas

Tiene aplicación en los procesos autoinmunes, es usada en el vitíligo, artritis reumatoide, esclerosis múltiple o esclerodermia. Se han realizado estudios donde se observa que las preparaciones a base de calaguala, incrementan la liberación de linfocitos T y ello actúa directamente en los procesos autoinmunes atenuando el curso natural de la enfermedad (24).

Al administrar calaguala a pacientes con estomatitis aftosa, demostró detener las ulceraciones de los pacientes mejorando la evolución de la enfermedad, también hay estudios realizados en ratones a los cuales se les injertaron piel evitando los procesos de rechazo y mejorando la cicatrización.

Estudios realizados con los rizomas de calaguala demostraron la actividad antitumoral y antiviral, en los años 60 se publicó un estudio el cual demostró la eficacia de la tisana de calaguala en leucemias linfáticas, lo que llevó al instituto nacional del cáncer en EEUU a desarrollar bioensayos con los rizomas de la calaguala sobre tumores en diferente estadio arrojando resultados no prometedores en el tratamiento de esta enfermedad, los laboratorios Merck realizaron estudios sobre actividades tumorales y tampoco encontraron resultados favorecedores.

La dermatología también se ha visto favorecida por el empleo de la Calaguala, en estudios realizados, la administración de Anapsos en una dosis de 80-720 mg/día, mejoró la estética de pacientes con psoriasis en seis meses de tratamiento, cuando se comparó con medicamentos convencionales la calaguala presentó mejorías en esta enfermedad, el producto produce una regulación del cociente CD4/CD8, así como de las catequinas alteradas (INF- α e IL-1 β), en particular en la psoriasis vulgar, psoriasis palmo-plantar y psoriasis invertida, procesos en los cuales estos factores juegan un papel inflamatorio/proliferativo muy acentuado. También se administró a paciente con vitíligo demostrando que el extracto de rizomas de calaguala administrado tópicamente provocó inducción melanocítica. (23,24).



Figura 1: Rizomas de *Polypodium picnocalpurnum* (Calaguala)

Fuente: Bezanger B. Vademécum de prescripción plantas medicinales, 1998 (25)

Diuréticos: Los diuréticos son drogas que reducen el volumen de líquido extracelular, aumentan la excreción urinaria de cloruro de sodio y en forma secundaria, incrementan el volumen de orina excretado por los riñones. Los diuréticos se utilizan sobre todo para prevenir y reducir el edema y la ascitis. Estos trastornos se asocian con enfermedades cardíacas, renales hepáticas. Estos agentes también se utilizan para el tratamiento de la hipertensión, la diabetes insípida, los cálculos renales, la hipercalcemia, la insuficiencia renal aguda y crónica y el síndrome nefrótico. (25).

Según los protocolos de tratamiento de la hipertensión arterial se usan un diurético para el inicio de esta enfermedad, al provocar diuresis se eliminan cationes o electrolitos implicados en este proceso lo que repercute en una baja de la P.A. Así pues la pérdida de líquido disminuye el flujo sanguíneo y por lo tanto la resistencia de los vasos sanguíneos.

Tabla 1 Clasificación de diuréticos empleados en medicina

Fuente: Bertram G. Katzung, Anthony J. Trevor Farmacología básica y clínica, 13e Capítulo 15 Pagina 241. (26)

<p>I INHIBIDORES DE LA REABSORCIÓN DE SODIO</p> <p>a.- Diuréticos de ASA (Máxima eficacia 15% N.A) Furosemida – Piretanida Bumetanida – Torasemida</p> <p>b.- Tiazidicos (Eficacia media. PGAH y TD 5 a 10% N.A) Bendroflumetacida Hidroclorotiazida Clorotiazida Indapamida</p> <p>c.-Ahorrradores de Potasio (Final T.C.D. 5% N.A.) Espironolactona (Ant de la Aldosterona) Amilorida Triamtereno</p>	<p>II OSMOTICOS (T.C.P)</p> <p>Manitol Isosorbida Urea</p> <p>III INHIBIDORES DE LA ANHIDRASA CARBONICA</p> <p>Acetazolamida Dorzolamida Diclorfenamida</p> <p>IV DIURETICOS QUE INCREMENTAN EL FLUJNO SANGUINEO RENAL</p> <p>Teofilina Cafeína</p> <p>V OTROS DIURETICOS</p> <p>Sales acidificantes: Cloruro de amonio, de calcio, nitrato de amonio</p>
--	---

Diuréticos osmóticos:

Los diuréticos osmóticos son sustancias hipertónicas. Estas drogas retienen agua evitando ser reabsorbidos por el glomérulo, cuando se administran por vía intravenosa, producen diuresis elevada actúan deteniendo la reabsorción de cloro y sodio. (26).

El manitol, es el diurético osmótico utilizado con mayor frecuencia. Debido a sus efectos osmóticos en los túbulos proximales, el manitol impide la reabsorción de agua e interfiere en la reabsorción de sodio.

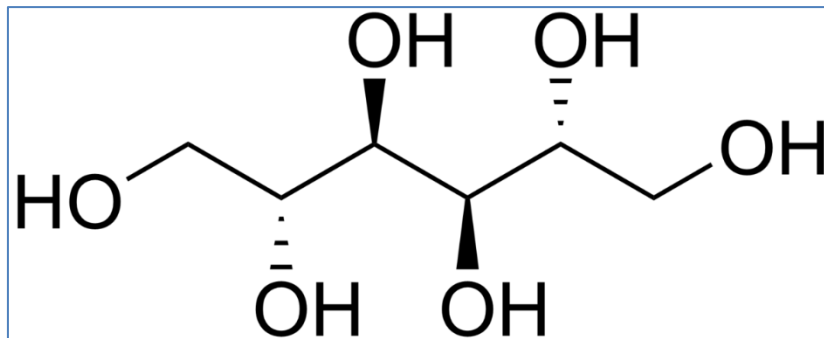


Figura 2: Estructura química del manitol

Fuente: (Remington, 2003, p. 1588)

Diuréticos inhibidores de los túbulos renales:

Estos diuréticos inhiben los mecanismos responsables del transporte activo para la reabsorción de cationes.

Inhibidores de la anhidrasa carbónica:

Los prototipos son la acetazolamida y dorzolamida, actúan en el túbulo proximal, su mecanismo de acción se debe a que disminuye la reabsorción de sodio. La enzima anhidrasa carbónica (CAH) acelera la regulación del equilibrio de reacción: $\text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$.

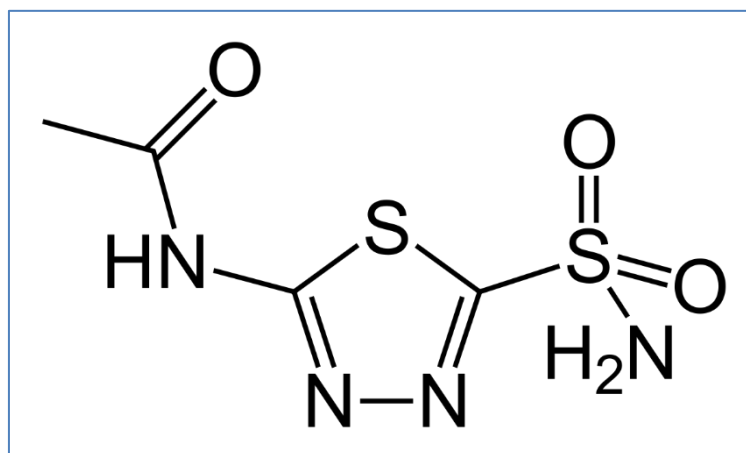


Figura 3: Estructura química de la acetazolamida

Fuente: (Lüllmann et al., 2010: pp. 162)

Benzotiadiazinas y diuréticos relacionados:

Estos compuestos provocan la eliminación del catión sodio evitando la absorción en el segmento cortical del asa de Henle. Estos fármacos no solo eliminan sodio, sino que también provocan la eliminación otros electrolitos como Potasio y cloro y en menor cantidad ion bicarbonato. Los más usados son: Bendroflumetiazida, Benztiazida, Ciclotiazida, Clortalidona, Hidroclorotiazida, Hidroflumetazida, etc.

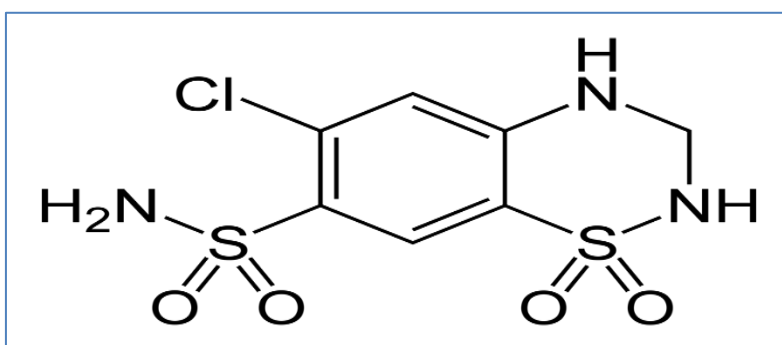


Figura 4: Estructura química de la hidroclorotiazida

Fuente: (Remington, 2003, p. 1593) (27)

Diuréticos ahorradores de potasio:

Comprenden la espironolactona, el triamtreno y la amilorida. Estos agentes provocan una natriuresis leve y reducen la excreción de iones potasio e hidrógeno.

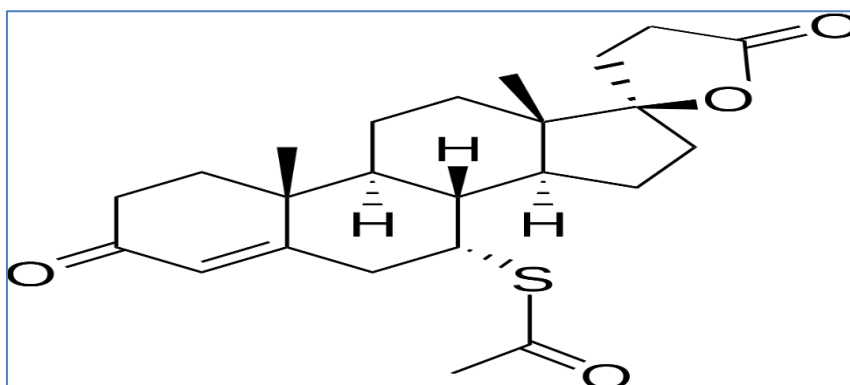


Figura 5: Estructura química de la espironolactona

Fuente: (Remington, 2003, p. 1596) (27)

Diuréticos de asa (alta eficiencia):

Comprenden el ácido etacrínico, la furosemida y la bumetanida; son los agentes diuréticos potentes. El denominador común de ellos es que ejercen su acción principal en la rama ascendente (gruesa) del asa de Henle cortical y medular. Los diuréticos del asa inhiben el transporte activo de cloro, y posiblemente también de sodio (27).

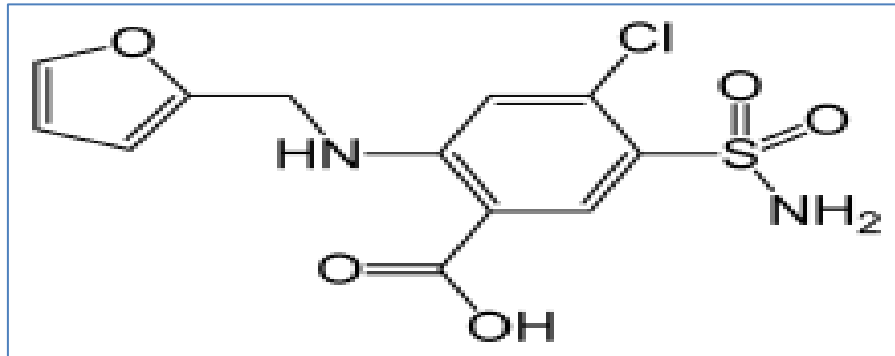


Figura 6: Estructura química de la furosemida

Fuente: (Remington, 2003, p. 1589) (27)

Diuréticos que Incrementan el flujo sanguíneo renal:

- **Teofilina. Descripción**

Uno de los metabolitos secundarios con actividad sobre las vías respiratorias son las xantinas, las cuales se emplean en el tratamiento del asma bronquial y los procesos de bronco espasmo. Están Presentes en el Té, la cafeína y la teobromina. La teofilina actúa como diurético, ayudando a la eliminación de líquidos y sodio, pero también, es un relajante muscular y estimulante cardíaco.



Figura 7: Estructura de la teofilina

Fuente: (Remington, 2003, p. 876) (27)

- **Cafeína. Descripción**

Es una trimetilxantina que tiene 3 grupos metilos en su estructura conformacional, se obtiene del café y es un potente estimulante del SNC y del sistema respiratorio. Como segundo efecto demuestra capacidad diurética, es aperitivo provocando la liberación de jugos gástricos y aumenta el flujo sanguíneo.

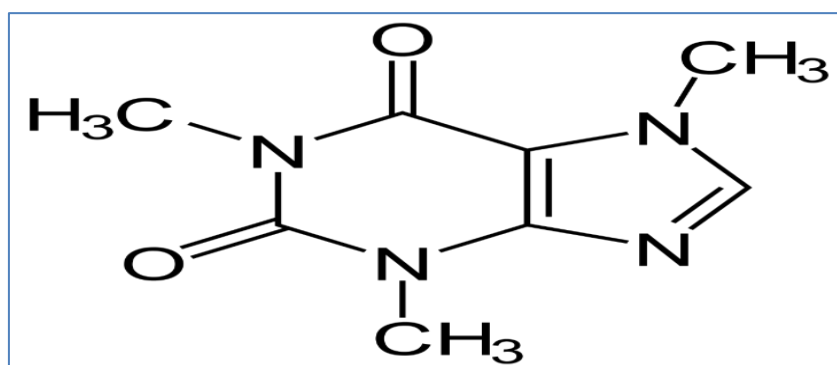


Figura 8: Estructura química de la cafeína

Fuente: (Remington, 2003, p. 811) (27)

Otros diuréticos

Sales acidificantes

Cloruro de amonio

El cloruro de amonio, cloruro amónico o clorhidrato amónico es una sal de amonio cuya fórmula química es NH_4Cl . Es conocido vulgarmente

también con los nombres de sal de amoníaco, sal amoníaco, almohatre o almojáter.

Farmacología

Es utilizado en pacientes que sufren de edema ya que provoca la excreción de líquidos y cationes vinculados a la retención de líquidos. Es un producto que debe administrarse con cuidado ya que su capacidad para producir diuresis va en aumento en función a los días de tratamiento incrementándose el volumen urinario eliminado de manera peligrosa. (27).

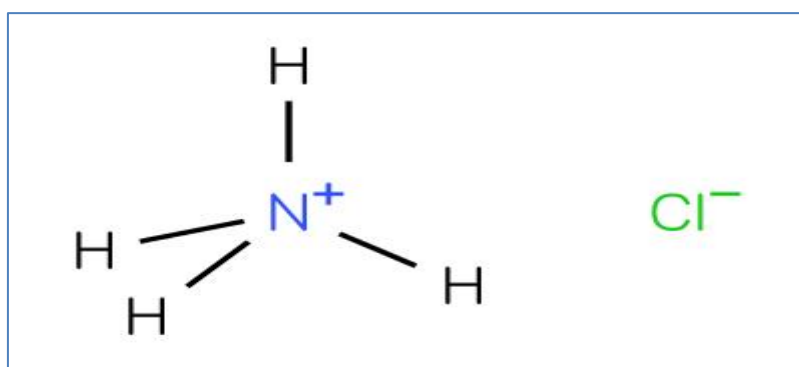


Figura 9: Estructura química del cloruro de amonio

Fuente: (Remington, 2003, p. 966) (27)

Plantas medicinales

Las plantas medicinales elaboran principios activos que tienen actividad benéfica o perjudicial sobre el organismo. Sirven para disminuir o neutralizar las enfermedades, alivian y devuelven la salud perdida. Dentro de las plantas medicinales se encuentran las aromáticas, las especias y las apícolas. De acuerdo a su función las plantas medicinales se pueden clasificar como: plantas relajantes, digestivas, circulatorias, hepáticas, depurativas, respiratorias, para la piel, para los problemas reumáticos, para los ojos, boca y oídos, para la mujer y para mejorar el sistema inmune (27).

Plantas depurativas:

Estas plantas tienen una actividad diurética ejerciendo acción en patologías de retención de líquidos, también son antisépticas por que ayudan en infecciones

de las vías urinarias; asociado a esto que está indicada para cálculos renales. (28)

Plantas medicinales diuréticas:

Las plantas diuréticas producen excreción de agua, sin eliminación de iones. Estas plantas presentan una acción suave y cuantitativamente inferior a la de los diuréticos sintéticos. Los principios activos que pueden intervenir en la acción diurética son aceites esenciales, flavonoides, saponósidos y sales de potasio. El mecanismo de acción puede ser causado por flavonoides, aceites esenciales, saponósidos, etc, los cuales posiblemente actúen en el glomérulo con más frecuencia que en el túbulo, provocando acuarenesis que es un incremento en la formación de orina (28).

Para ser eficaces, las plantas diuréticas deben ser dosificadas de manera correcta. Por lo general, la dosis es demasiado débil, por lo que el efecto es muy reducido, incluso inexistente en algunos casos. Cuando se dosifican correctamente las plantas, los efectos se mantienen de manera efectiva, la frecuencia de las micciones aumenta, así como las cantidades eliminadas. Para encontrar la dosis óptima hay que aumentar las dosis medias sugeridas hasta la obtención de los efectos anhelados. Las plantas diuréticas han de tomarse al menos tres veces al día. Las tomas deben extenderse de cuatro a seis semanas, aproximadamente, y renovarse, tras una pausa de una o dos semanas. También es recomendable cambiar de diurético a diurética porque el organismo tiende a habituarse a las plantas y no reaccionar tan fuertemente a su estímulo. Al igual que los alimentos, estas plantas pueden también contener ácidos y estar contraindicadas para personas que padecen una debilidad metabólica (cola de caballo principalmente). Preparadas en forma de infusión, las plantas diuréticas presentan la ventaja de aportar líquido, además de su efecto diurético propio. Sin embargo, su preparación exige cierto tiempo, y a no todo el mundo necesariamente le gusta beberlas. Felizmente, los comprimidos de plantas o las tinturas madres son alternativas igualmente válidas. (28).

Funciones de los riñones

Regulación del volumen de agua del organismo y de la osmolaridad del LEC Diariamente, llegan a los riñones 1200 litros de sangre, de los cuales son filtrados, por los glomérulos, 180 litros, y de ellos, solo aparecen en orina de 1 a 2 litros. Esto da una idea del gran volumen de agua que debe ser reabsorbido. Normalmente, en los túbulos proximales se reabsorben aproximadamente 158 litro, de manera fija. El resto es reabsorbido más distalmente, pero en este caso, el total reabsorbido puede variar dependiendo de la acción de la HAD.

Control del balance electrolítico y del equilibrio ácido-base Los riñones tiene la capacidad de regular la concentración plasmática de sodio, cloruro, potasio, bicarbonato, calcio, fosfato, magnesio y protones, entre otro.

Conservación de nutrientes Los riñones deben conservar aquellos nutrientes necesarios para el organismo, como son la glucosa, los aminoácidos y las proteínas. Estas sustancias son filtradas, pero luego deben retornar a la sangre.

Excreción de residuos metabólicos y xenobioticos Los riñones excretan en la orina aquellos productos de desecho metabólicos como: la urea (del metabolismo de la creatinina muscular), productos de la degradación de la hemoglobina y de ciertas hormonas y otros mensajeros químicos.

Regulación de la presión arterial Los riñones regulan la presión arterial, esta función la llevan a cabo por medio de dos mecanismos: 1. Regulando el volumen del LEC y la concentración de sodio plasmática. 2. Regulando una serie de mecanismos híper e hipotensores y de mensajeros químicos que participan en estos mecanismos

Formación de la orina La formación de la orina comienza con la filtración glomerular (FG), normalmente se filtra alrededor de 180 litros diarios de líquido, el glomérulo filtra todos los componentes solubles de la sangre menos proteínas plasmáticas. Más del 90% de la filtración glomerular es reabsorbido en los túbulos. Se produce aproximadamente 1,5 litros de orina en 24 horas. La acción fundamental de los diuréticos es inhibir reabsorción tubular (30).

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* (Calaguala) tiene actividad diurética en ratas albinas.

2.3.2. Hipótesis específicas

1.- El extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* (Calaguala) presenta metabolitos secundarios que se pueden definir mediante perfil fitoquímico.

2.- Existe una dosis efectiva del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* (Calaguala) en la cual se presenta el efecto diurético esperado.

3.- El extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* (Calaguala) presenta una dosis letal media (DL50) al ser administrada a ratas albinas

4.- El extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* (Calaguala) presenta toxicidad aguda a dosis repetidas en la muestra de ratas albinas.

2.4. Definición de términos básicos

Actividad diurética:

Es la capacidad de toda sustancia que al ser ingerida provoca una eliminación de agua y electrolitos del organismo, a través de la orina y la expulsión de materia fecal. (29).

Excreción:

La excreción es un proceso que se da en los organismos capaces de eliminar aquellos productos que ya no necesita para su normal funcionamiento, es una función propia de los seres vivos, es un proceso fisiológico. (29)

Extracto:

Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra por diversos procedimientos. (32).

Extracto hidroalcohólico:

Es el producto de tratar una muestra sólida pulveriza con disolventes los cuales sea muy soluble de con la cual se forma una pasta que contiene los componentes de la especie vegetal. (32).

Inducción:

Es un procedimiento el cual consiste en analizar a través de la observación, situaciones particulares a fin de originar una conclusión.

Metabolitos:

Son compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es letal para el organismo, sin embargo, aislada contiene propiedades terapéuticas en el ser humano. (32).

Tallo:

El tallo es la parte aérea de la planta que soporta al resto de los órganos aéreos laterales como son las hojas en la fase vegetativa y las flores, además de a los órganos derivados de ellas como son los frutos y semillas. Otras funciones típicas del tallo son la conducción, la fotosíntesis y el almacén de sustancias. La forma del tallo (altura, anchura, consistencia, grado de ramificación, etcétera) se

denomina porte y su aspecto final depende de la interacción de la información genética de la planta con el medio ambiente. (32).

Rizoma:

Tallo subterráneo con varias yemas que crecen de forma horizontal emitiendo raíces y brotes herbáceos de sus nudos. (32).

Diuresis:

Es la secreción de orina tanto en términos cuantitativos como cualitativos. También se define como la cantidad de orina producida en un tiempo determinado. (30).

Orina:

Es un líquido acuoso transparente y amarillento, de olor característico, secretado por los riñones y eliminado al exterior por el aparato urinario. (30).

Principio activo:

Toda materia, cualquiera que sea su origen humano, animal, vegetal, químico o de otro tipo a la que se atribuye una actividad apropiada para constituir un medicamento (32)

Ensayos clínicos:

Es una evaluación experimental de un producto, sustancia, medicamento, técnica diagnóstica o terapéutica que, en su aplicación a seres humanos, pretende valorar su eficacia y seguridad. (31).

Volumen:

La unidad de medida de volumen en el Sistema Internacional de Unidades es el metro cúbico. Para medir la capacidad se utiliza el litro.

Grupo:

Un grupo es un conjunto de personas animales o cosas asignadas o auto asignadas, de acuerdo a sus características para cumplir una determinada meta de estudio.

Dosis:

Cantidad de principio activo de un medicamento, expresado en unidades de volumen o peso por unidad de toma en función de la presentación, que se administrará de una vez. (31).

Control:

Grupo que teóricamente valora la evolución de los pacientes en ausencia de tratamiento activo alguno.

Administración:

Camino que se elige para hacer llegar un fármaco hasta su punto final de destino. (30).

TABLA DE OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES DEL ESTUDIO

TITULO	VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	INSTRUMENTO
“ACTIVIDAD DIURETICA DEL EXTRACTO Hidroalcohólico DE LOS RIZOMAS DE <i>POLYPIDIUM PICNOCARPUM</i> (Calaguala) EN RATAS ALBINAS”	Extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala)	Identificación macroscópica	Forma Color Aspecto	Ficha Taxonómica
		Identificación física	Prueba de solubilidad	Sistema de solventes
		Identificación de metabolitos	Flavonoides Taninos Camarinas Fenoles etc.	Marcha fitoquímica Cromatografía en capa fina
	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	INSTRUMENTO
	Actividad Diurética	Diuresis	Frecuencia Volumen % de diuresis con respecto al blanco % de diuresis con respecto al tratamiento	Método de Night Set de cánulas orales

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

El tipo es básico, ya que busca incrementar conocimientos sobre los principios fundamentales de la farmacología.

El nivel es explicativo por tener variables de causa y efecto.

El método fue analítico, porque permitió analizar los diferentes componentes que contienen el extracto y su influencia en el efecto diurético.

El diseño fue experimental, se usaron 35 ratas y se agruparon en dos grupos, un grupo experimental y un grupo de control. El grupo experimental estuvo constituido por 15 ratas, a las que se les administraron el extracto hidroalcohólico de los rizomas de Calaguala, mientras que los 20 restantes actuaron como grupo de control. Se siguió el procedimiento siguiente:

RG = 01 X 02
RG= 03 X 04

✓ **Donde:**

R= Asignación al azar o aleatoriamente

G = Grupo de sujetos 5

X = actividad diurética

01 = Una medición **previa** a los sujetos de un grupo (cuantificación) Grupo **control**

02 = Una medición **posterior** a los sujetos de un grupo (cuantificación.) Grupo **control**

03 = Una medición **previa** a los sujetos de un grupo (cuantificación) Grupo **experimental**

04 = Una medición **posterior** a los sujetos de un grupo (cuantificación).)
Grupo **experimental**.

- ✓ In vivo: se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.
- ✓ Transversal: el estudio se realizó en un determinado tiempo desde (diciembre 2017 a mayo 2018).
- ✓ Prospectivo: los resultados obtenidos servirán para posibilitar esquemas de tratamiento de la hipertensión arterial y edemas, usando el extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnarpum* (Calaguala).

3.2 Población y muestra

Población vegetal

La población vegetal de interés estuvo conformada por 10 arbustos de la especie *Polypodium picnarpum* (Calaguala), que se encontraron en un diámetro de 10m², los cuales fueron seleccionados por sus características organolépticas (forma, tamaño, color).

Población animal

40 ratas albinas de cuatro meses de edad y de 250-350 gramos de peso adquiridas en el Bioterio del Instituto Nacional de Salud (INS) de Chorrillos, Lima.

Muestra vegetal

300 g de rizomas de *Polypodium picnarpum* (Calaguala) con el cual se elaboró el extracto hidroalcohólico

Muestra animal

Estuvo constituida por 35 ratas albinas

Para la actividad diurética se utilizó 25 ratas

Para la dosis letal 50 (DL50) se utilizó 9 ratas.

Para la toxicidad oral a dosis repetidas se utilizó 1 rata

3.3. Equipos, materiales y reactivos

- ✓ Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de los rizomas de la Calaguala.
- ✓ Marcha fitoquímica. Se realizó con el objetivo de determinar la presencia de metabolitos secundarios, dependiendo de sus características estructurales y solubilidad de cada uno de ellos, permitiendo su identificación en uno u otro solvente (agua, alcohol, éter y cloroformo).
- ✓ Ficha de registro de la muestra de ratas albinas.

Materiales:

Materiales para la elaboración del extracto hidroalcohólico:

Materiales	Especificación	Marca
Placas Petri	200x15 mm	BOHECO ^R
Tubos de ensayo	16x150 mm	PIREX ^R
Gradilla de metal para	12 tubos	HEATHROW SCIENTIFIC ^R
Pipetas	5 cc	MARIENFELD ^R
Gotero Pasteur	plástico	
Frascos de boca ancha	500 mL	PIREX ^R
Fiolas	25 cc	BOHECO ^R
Buretas	25 cc	BOHECO ^R
Frascos goteros		
Embudo chico	50 mL	CMF ^R
Papel filtro	paso lento	BOHECO ^R

Equipos utilizados para la elaboración del extracto hidroalcohólico:

Equipos	Marca
Equipo de filtración	NEMMET ^R
Estufa desecadora	NEMMET ^R
Desecador	NEMMET ^R
Balanza analítica	SARTORIUS ^R
Lámpara ultravioleta	ZEIZZ ^R

Reactivos usados para la marcha fitoquímica:

Reactivos
Solventes (etanol 96%)
Cloruro férrico
Reactivo de Shinoda
Reactivo de Fehling A
Reactivo de Fehling B
Reactivo de hidróxido de sodio
Reacción de Bornträger
Reactivo de Dragendorff
Reactivo de Mayer

Materiales usados para el efecto diurético:

Materiales
Set de cánulas orales MILTEX ^R
Algodón 500 g CKF ^R
Furosemida Inyectable
Cloruro de sodio al 0.9% BAXTER ^R

3.4. Procedimientos

Preparación del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala)

Los rizomas seleccionados se sometieron a limpieza previa, se desinfectó con alcohol, a continuación se pesaron los rizomas, seguidamente se realiza la ralladura, posteriormente fue envasado en un frasco de 1000 mL de color ámbar boca ancha, a este frasco se le añadió el rizoma rallada en una cantidad de 300 g, alcohol de 70° cantidad 1000 mL, y se dejó macerar por 7 días con agitación cada doce horas, protegidos de luz y calor. Luego de los 7 días se filtró el macerado con papel filtro de paso rápido, para eliminar el solvente se utilizó la estufa a 40°C; pasado tres días, se obtuvo un aproximado de 40 mL del extracto

concentrado. Se depositó en una placa Petri y se colocó en una coccinilla eléctrica a 60 °C, para la evaporación del solvente restante hasta obtener el extracto seco que se obtuvo un peso de 15 g como resultado final.

Luego se pesó el extracto seco, y se colocó en un recipiente bien cerrado, protegido de la luz y el calor, se guardó en el refrigerador a 6 °C para su utilización en el procedimiento de la actividad diurética en los animales de experimentación.

Determinación de metabolitos

Método Domínguez (33) y Moncayo, S. (35):

Con el objetivo de determinar la presencia de metabolitos secundarios, se realizó el tamizaje fitoquímico, utilizando el método Domínguez.

Se desarrolló los siguientes ensayos:

Determinación de taninos

Usando el reactivo de gelatina cloruro de sodio. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 4 gotas del reactivo determinador. Se procedió a centrifugar. La reacción es positiva si presenta un precipitado blanco en el fondo del tubo.

Usando el reactivo de cloruro férrico. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 4 gotas del reactivo determinador. La reacción es positiva si presenta una coloración negra azulada (ácido pirogálico) o si presenta coloración verde (catequinas).

Determinación de flavonoides

Usando el reactivo de Shinoda. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 1 limadura de magnesio y se añadió HCl 5 gotas. La reacción es positiva si presenta una coloración naranja intenso.

Determinación de cumarinas

Usando el reactivo de NaOH 10%. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo indicador. La reacción es positiva si presenta fluorescencia de color verde amarillenta bajo la lámpara UV 365nm.

Determinación de quinonas

Usando el reactivo de NaOH 5%. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo indicador. La reacción es positiva para compuestos quinónicos si presenta fluorescencia de color verde amarillenta bajo la lámpara UV 365nm.

Usando el reactivo de Bornträger. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo NaOH 5% y se aciduló con HCL se añadió un solvente bencénico se agitó y se separó la fase bencénica, finalmente se añadió NH_4OH . La reacción es positiva si presenta coloración rosada a roja lo que indica presencia de antraquinonas.

Determinación de alcaloides

Usando el reactivo de Dragendorff. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo señalado. La reacción es positiva si presenta un precipitado de coloración naranja a rojo.

Usando el reactivo de Mayer. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo señalado. La reacción es positiva si presenta un precipitado de coloración blanco a crema.

Usando el reactivo de Bertrand. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo señalado. La reacción es positiva si presenta un precipitado de coloración blanco

Usando el reactivo de Sonnenschein. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo señalado. La reacción es positiva si presenta un precipitado de coloración amarillo verdoso.

Carbohidratos

Usando el reactivo de Molish. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo señalado. La reacción es positiva si presenta un anillo violeta.

Usando el reactivo de Antrona. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo señalado. La reacción es positiva si presenta una coloración verdosa.

Usando el reactivo de Fehling A y B. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo de Fehling A y B. La reacción es positiva al calentar en baño maría presenta coloración rojo ladrillo.

Aminoácidos libres y grupos amino

Usando el reactivo de Ninhidrina. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo señalado y se calentó en baño maría. La reacción es positiva si presenta un amarillo violáceo.

Triterpenoides y esteroides

Usando el reactivo de Lieberman- Burchard. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo señalado. La reacción es positiva si presenta una coloración verde azulada para esteroides y rojo naranja para triterpenoides.

Saponinas

Usando agua destilada. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 5ml de agua destilada. La reacción es positiva si presenta espuma estable después de 3 minutos de agitación.

Glicósidos

Usando el reactivo de Baljet. A una pequeña cantidad de muestra se le agregó 2 gotas del reactivo señalado. La reacción es positiva si presenta una coloración anaranjada.

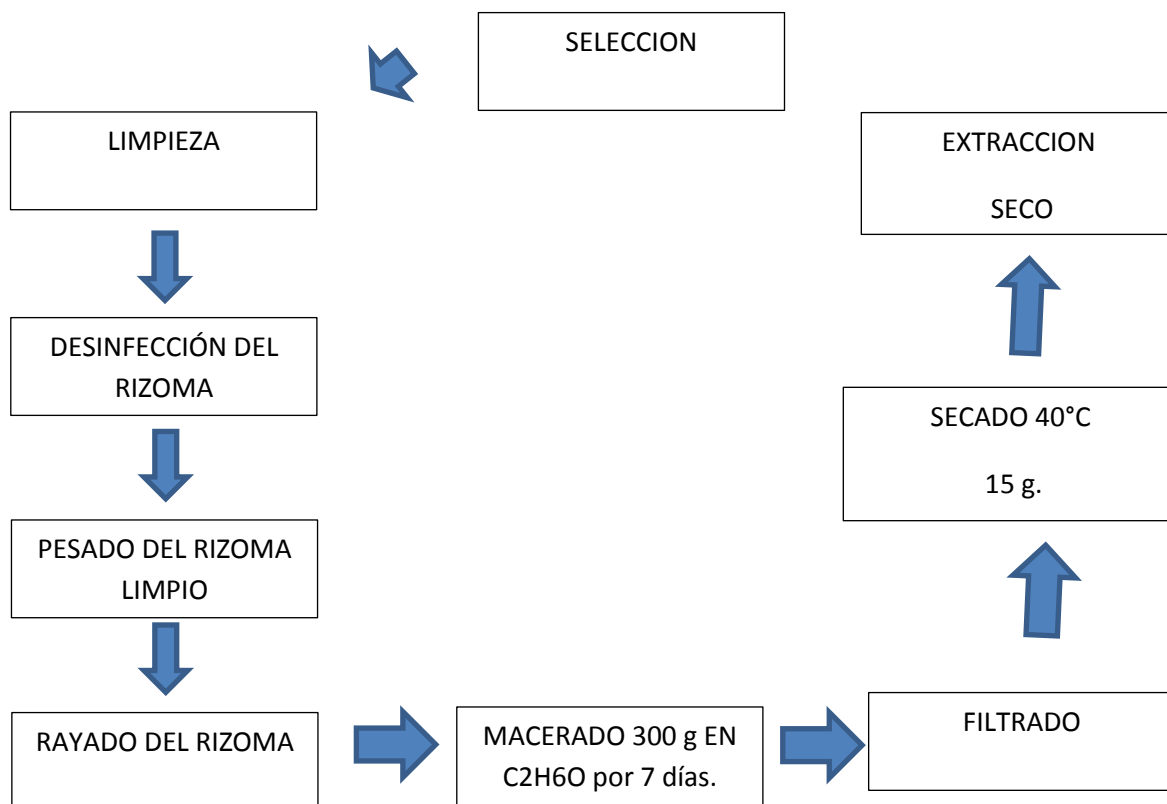


Figura 10: Extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala)
Fuente: elaborado por las investigadoras, 2018

Cromatografía en capa fina (35):

Cromatografía en capa fina para alcaloides:

En los ensayos cromatográficos en capa fina para alcaloides se usó placa cromatográfica de los laboratorios Merck (TLC sílica gel F254) como fase de reposo o fase estacionaria; para la fase móvil se usó Metanol y agua en proporciones de (25:75), respectivamente, además una jeringa de 1mL

Para la comparación la presencia del analito, se usó un estándar de cafeína en concentraciones de 10 mg/mL el cual se inyectó en proporción de 5uL en la fase estacionaria, caso similar se realizó con la muestra de calaguala. Una vez inyectada la muestra, la fase estacionaria se colocó en una cuba cromatográfica la cual contiene los solventes mencionados, esto corresponde a la fase móvil.

Una vez terminada la corrida de la muestra, se secó la placa en una plancha de calentamiento hasta evaporar el solvente. Para evidenciar las manchas de desplazamiento se usó luz UV de 254 nm.

Para identificar los alcaloides, fue necesario rociar ácido sulfúrico al 2% y luego reactivo de Dragendorff como revelador. La evidencia positiva mostró manchas rojas o naranjas.

Cromatografía en capa fina para flavonoides:

Los ensayos cromatográfica en capa fina para flavonoides se usó una placa de cromatografía del laboratorio Merck (TLC silica gel F254) como fase estacionaria, para la fase móvil se usó butanol, agua, ácido acético en proporciones de (20:15:05) respectivamente que fueron mezclados previamente en una pera de bromo, además una jeringa de 1mL

Para la comparación se usó un estándar de quercetina y rutina en concentraciones de 10 mg/mL la cual es inyectada en proporción de 5ul en la fase estacionaria, caso similar se realizó con la muestra de calaguala.

Una vez terminada la corrida de la muestra, se secó la placa en una plancha de calentamiento hasta evaporar el solvente. Para evidenciar las manchas de desplazamiento se usó luz UV 254 nm.

Para identificar los flavonoides, fue necesario rociar tricloruro de aluminio revelador. La evidencia positiva dio manchas amarillas a verdes.

Procedimiento de la actividad diurética

Para evaluar la actividad diurética fue utilizado el método de Naik y Col con modificaciones. Se utilizaron 25 ratas machos, con un peso promedio de 250 - 350g, estos fueron mantenidos en cuarentena durante 7 días con libre disposición de alimentos y agua, en condiciones de ambientación adecuadas. Las ratas fueron, privados de agua y comida 18 h antes del experimento y durante el mismo. Se realizó la separación aleatoria a los animales y se procedió a administrar los tratamientos a las concentraciones de 250 mg/Kg, 500 mg/Kg y 1000 mg/Kg del extracto del vegetal (calaguala) por vía oral en un volumen igual a 5 mL; al lote control se administró solución salina en el mismo volumen de 5 mL, al bloque control positivo se administró 5 mL de solución salina por vía

oral más una dosis de furosemida 20 mg/Kg por vía intraperitoneal. Luego de la hidratación correspondiente se colocó en jaulas metabólicas adaptadas de forma individual para la recolección de orina, se recolectó el volumen de orina cada hora durante un periodo de 6 horas. Concluido el experimento se procedió a la eutanasia de los animales mediante anestesia con éter.

3.5. Procesamiento de datos

- Se realizó la aplicación estadística descriptiva para establecer la distribución de los datos recolectados a través de medidas de tendencia central, dispersión, forma y posición.
- También se utilizaron técnicas de estadística inferencial para la prueba de hipótesis de la investigación.
- Se presentaron los resultados en tablas con su respectiva representación gráfica.
- Para analizar diferencias significativas de medias independientes de los cuestionarios se utilizó la prueba paramétrica del Chi cuadrado. Se consideró un margen de error estadístico de 5%.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1 Presentación

Los resultados del presente estudio se presentan y exponen mediante las siguientes tablas, las cuales expresan en forma descriptiva y explicativa los datos obtenidos de las variables estudiadas.

Tabla 2: Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala)

Disolventes	Solubilidad
Agua	+++
Acetona	+
Metanol	++
Etanol	+++
Acetato de etilo	0
N- Butanol	0
Éter etílico	0
N hexano	0

LEYENDA:

Muy Soluble
Soluble
Poco soluble
Insoluble

+++
++
+
0

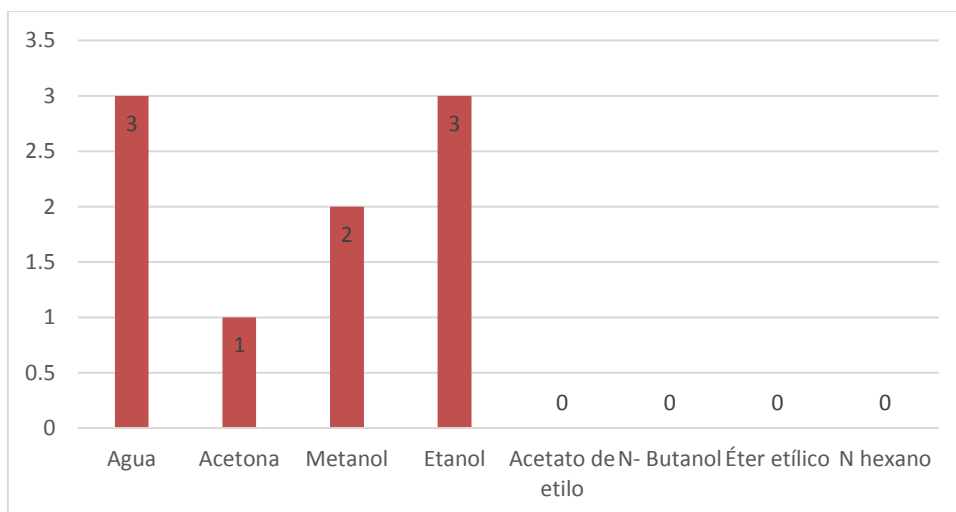


Figura 11: Prueba de solubilidad

El desarrollo de la prueba en solventes de diferentes polaridades, se demostró que el extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) posee una alta solubilidad en agua y etanol (solventes polares).

Tabla 3: Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala)

ANALITO	REACCIÓN	RESULTADO
	Ensayo de Molish	0
EVALUACIÓN DE CARBOHIDRATOS	Ensayo de Antrona	0
	Ensayo de Fehling	0
EVALUACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS	Ensayo de FeCl ₃	0
EVALUACIÓN DE TANINOS	Ensayo de Gelatina	0
EVALUACIÓN DE FLAVONOIDES	Ensayo de Shinoda	++
EVALUACIÓN DE ANTOCIANINAS Y FLAVONOIDES CATÉQUICOS	Ensayo de Rosenheim	0
EVALUACIÓN DE AMINOÁCIDOS LIBRES Y GRUPOS AMINO	Ensayo de Ninhidrina	0
EVALUACIÓN DE ALCALOIDES	Ensayo de Dragendorff	++
	Ensayo de Mayer	+
	Ensayo de Bertrand	+
	Ensayo de Sonnenschein	+
EVALUACIÓN DE NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Ensayo de Borntrager	+
EVALUACIÓN DE TRITERPENOIDES Y ESTEROIDES	Ensayo de Lieberman-Burchard	0
EVALUACIÓN DE SAPONINAS	Ensayo de Generación de espuma	+
EVALUACIÓN DE GLICÓSIDOS	Ensayo de Baljet	++
EVALUACIÓN DE CUMARINAS	Ensayo de NH ₄ OH cc ó NaOH 10%	0

Leyenda

(-) Sin evidencia,
 (+) Baja evidencia,
 (++) Moderada evidencia,
 (+++) Alta evidencia.

Tabla 4: Grupos de trabajo experimental de actividad diurética del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala)

GRUPO	TRATAMIENTO	N DE RATAS	TIEMPO	VOLUMEN mL	PROMEDIO Por hora
1	Normal + suero fisiológico	5	6 HORA	24.3mL	4.05
2	Control + furosemida 20mg/kg	5	6 HORAS	35.6mL	5.93
3	Extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) 250 mg/Kg	5	6 HORAS	26.8mL	4.46
4	Extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) 500 mg/Kg	5	6 HORAS	29.4mL	4.9
5	Extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) 1000 mg/Kg	5	6 HORAS	30.3mL	5.05

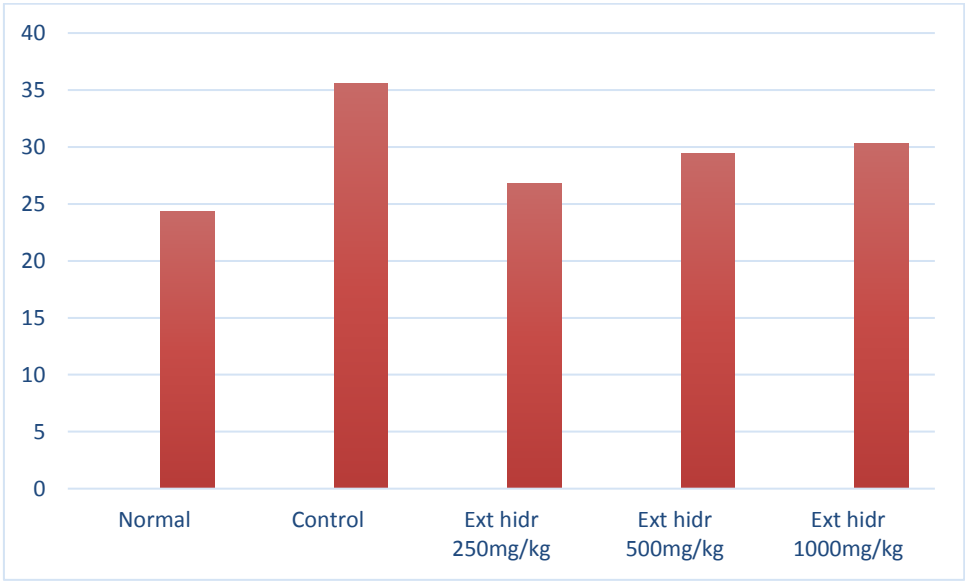


Figura 12: Actividad diurética. Desarrollo experimental (volumen)

El desarrollo de la actividad experimental en ratas albinas demostró que el extracto hidroalcohólico de los rizomas *Polypodium **picnocarpum*** (Calaguala) posee actividad diurética (volumen de orina en mL) desde la dosis de 250 mg/kg hasta 1000 mg/kg, siendo esta última la que ofrece mayor actividad en comparación a un estado normal.

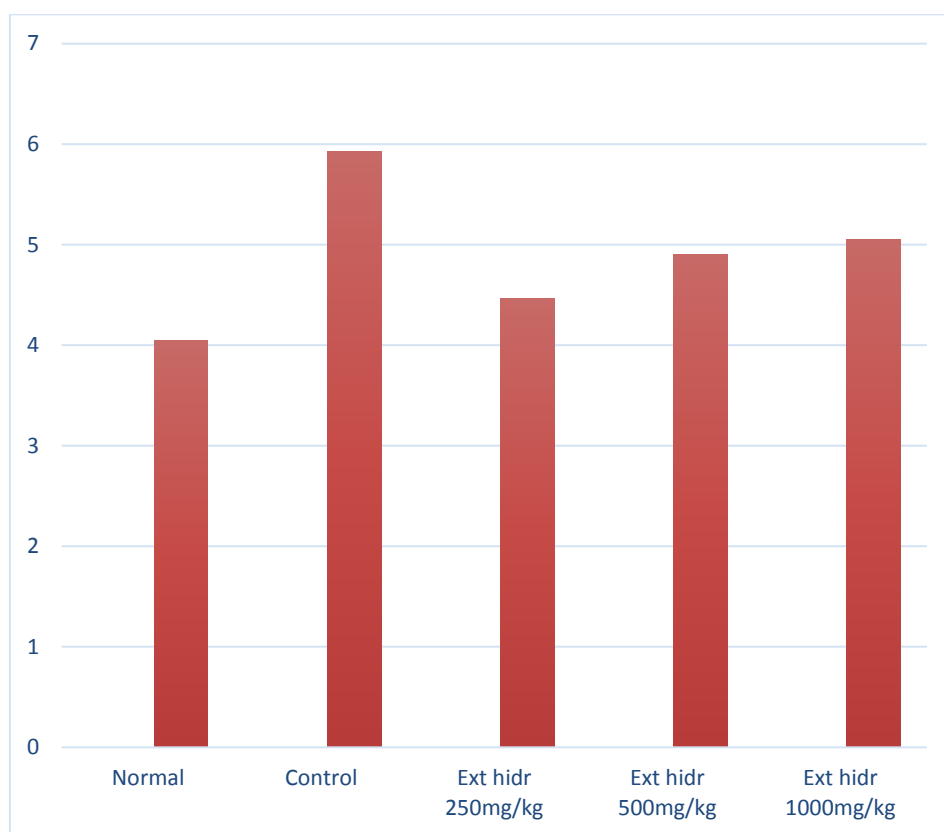


Figura 13: Actividad diurética. Desarrollo experimental (frecuencia)

El desarrollo de la actividad experimental en ratas albinas demostró que el extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* (Calaguala) posee actividad diurética, aumentando el número de las micciones desde la dosis de 250 mg/kg hasta 1000 mg/kg, siendo esta última la que ofrece mayor actividad en comparación a un estado normal.

Tabla 5: Dosis letal 50 (DL 50)

Tratamientos	Dosis (mg/kg)	Nº	Nº Muertos	Mortalidad (%)
Extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocalyx</i> Calaguala	250	3	0	0
	500	3	0	0
	1000	3	0	0

El desarrollo de la actividad experimental en ratas albinas, demostró que el extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocalyx* (Calaguala) no presenta dosis letal 50 (DL50) ya que ninguno de los animales de experimentación murió en el proceso.

Tabla 6: Toxicidad oral a dosis repetidas durante 28 días

Variación en el peso corporal durante el ensayo con tratamiento diario de 500 mg/kg de **Extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum*** (Calaguala)

Sexo	Semana	Peso corporal (g)	
		Control	tratado
Macho	0	255.1	265.5
	1	253.5	267.3
	2	259.9	260.9
	3	262.2	268.9
	4	267.5	270.6

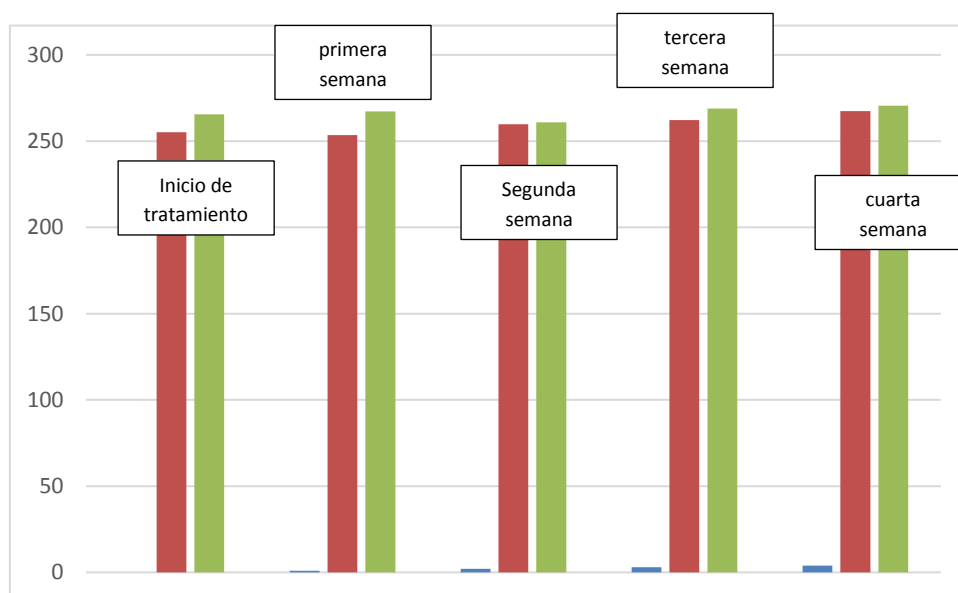


Figura 14: Variación de peso de toxicidad oral a dosis repetidas durante 28 días

El desarrollo de la actividad experimental en ratas albinas demostró que el extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) no provocó cambios significativos en el peso de los animales estudiados.

Contrastación de hipótesis

HG: El extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (calaguala) presenta actividad diurética en en ratas albinas.

H1= El extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (calaguala) si presenta actividad diurética en en ratas albinas.

ANOVA de un factor					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	P-valor
Factor	41,012	7	8,721	1791,333	,000
Error	,176	36	,005		
Total	41,106	43			

Como el P-valor es menor que 0.05 se puede afirmar que existe actividad diurética en el extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala). Sí presenta actividad diurética en en ratas albinas. Por lo tanto, se descarta la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1)

4.2 Discusión

El extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala) fue sometido a solventes de diferente polaridad, siendo soluble en agua y etanol (con una solubilidad alta) (tabla 1) y metanol y acetona con una solubilidad menor (tabla 1).

Luego de evaluar los resultados de la marcha fitoquímica, los metabolitos secundarios hallados en el extracto hidroalcohólico fueron: flavonoides, alcaloides, saponinas y glúcidos. (Tabla 2). Estos resultados son muy similares a los hallados por Moreno G, Quiroz R. quienes evaluaron el índice de irritabilidad

del extracto hidroalcohólico de las hojas de calaguala encontrando los mismos metabolitos.

Al realizar la cromatografía en capa fina, se evidencia la presencia de flavonoides y alcaloides, metabolitos secundarios muy presentes en esta familia (Anexo 11). Estos resultados son comparados con Martínez quien estudió el aguaymanto y encontró los mismos compuestos al realizar su investigación de actividad diurética. Asimismo, los resultados de Oré J. en su estudio de la Rosa Verde demostraron los mismos metabolitos secundarios.

El desarrollo de la actividad experimental en ratas albinas, demostró que el extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) posee actividad diurética, desde la dosis de 250 mg/kg hasta la dosis de 1000 mg/kg, siendo esta última la que ofrece mayor actividad en comparación en un estado normal. (Tabla 3). Los estudios realizados por Noriega y Rojas con frutos, también demostraron actividad diurética. En el primer caso utilizó dosis de 1000 mg/kg y, en el segundo, dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg obteniendo los mismos resultados.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones.

1. Los metabolitos secundarios hallados en el extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) fueron: flavonoides, alcaloides, naftoquinonas, saponinas, glicosidos.
2. El desarrollo de la actividad experimental en ratas albinas demostró que el extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) posee actividad diurética (volumen de orina en mL) desde la dosis de 250 mg/kg hasta la dosis de 1000 mg/kg, siendo esta la última que ofrece mayor actividad en comparación a un estado normal, también las frecuencias aumentaron en comparación con el blanco.
3. Al evaluar la dosis letal 50 DL50, se demostró que las dosis estudiadas, no provocaron la muerte en los animales de experimentación.
4. Así mismo, en la prueba de toxicidad oral a dosis repetidas por 28 días, no se evidenció la variación de peso.
5. Luego del desarrollo experimental, se pudo determinar que la administración del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala) si presenta actividad diurética en ratas albinas.

5.2 Recomendaciones

- El empleo del extracto hidroalcohólico de los rizomas de ***Polypodium picnocarpum*** (Calaguala) es recomendable como tratamiento alternativo para los pacientes que sufren de enfermedades cardiovasculares o retención de líquidos.
- Se debe realizar pruebas con animales de experimentación hipertensos para evaluar si puede revertir la hipertensión arterial.
- Analizar los valores bioquímicos para determinar si existe alguna complicación en la bioquímica normal de los animales de experimentación.
- Continuar estudios con otras plantas de potencial actividad diurética para evaluar su performance en el tratamiento de las enfermedades.

REFERENCIAS

1. Gola G, Negri G. y Cappeletti, C. Tratado de Botánica. 2.ª edición. Editorial Labor S.A., Barcelona, 1110 p. 2005
2. Encuesta Demográfica y de Salud Familiar - ENDES Instituto Nacional de Estadística e Informática. Encuesta Demográfica y de Salud Familiar 2016.
3. Cárdenas M. Quintana P. Evaluaron el efecto sinérgico antibacteriano in vitro del extracto acuoso de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) y del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium Picnocarpum* c. (Calaguala) en cepas *Escherichia coli* O104:H4, tesis para optar el título de Químico Farmacéutico y Bioquímico universidad Inca Garcilaso de la Vega. 2017.
4. Moreno G, Quiroz R. El objetivo de la investigación fue evaluar el índice de irritabilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de calaguala (*Phymatosorus grossus*). Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico y Bioquímico universidad Inca Garcilaso de la Vega. 2018.
5. Martínez E. "Efecto antihipertensivo del extracto etanólico de los frutos de *Physalis peruviana* L. "Aguaymanto" [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico] Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho. 2014.
6. Castillo S. "Efecto diurético de la ortiga, *Urtica dioica* y los niveles de excreción de sodio en *Rattus rattus albinus*". REBIOL Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2014.
7. Castillo S, Castillo E, Reyes C. "Efecto diurético de *Phyllanthus niruri* "chanca piedra" y niveles de excreción de sodio en *Rattus rattus* var. *Albinus*" UCV-Scientia/ Journal of Scientific Research of University Cesar Vallejo Vol. 3 Núm. 1.2011.
8. Apesteguía J. "Efecto diurético del zumo del fruto del limón (*Citrus limón* L.) en ratas de experimentación" [Tesis para optar al grado académico de Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental] Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2009.
9. Wren, R.C. Enciclopedia de Medicina Herbolaria y Preparados Botánicos. Editorial Grijalbo. San Miguel. México. pp. 233-234. 1994
10. Corrales H., Lainez, H., Pacheco, J. Calagualina: su ensayo en el tratamiento de la psoriasis. Revista Médica Hondureña, Vol. 40, No. 7, pp 253-262. 2002

11. Puig M. "Evaluación de la actividad diurética de la mezcla hidroalcohólica de la matricaria chamomilla y urtica urens para optar al título de química y farmacéutica Universidad de Guayaquil. Disponible en:<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/9056>. 2015.
12. Barrera A. Evaluación de la actividad diurética del extracto de chuquiragua (*Chuquiraga jussieui*) en ratas (*rattus norvegicus*). [tesis para obtener el grado de Bioquímica Farmacéutica] Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de ciencias. Riobamba. Ecuador. 2015.
13. Noriega, A. "Determinación del efecto diurético del extracto acuoso de las plantas medicinales *Citrus reticulata* (mandarina), *Citrus paradisi* (toronja) y *Citrus aurantifolia*. [Tesis para obtener el grado de Doctor] Universidad Nacional de San Carlos. Guatemala. 2015.
14. Segundo F. Castillo V. "Efecto diurético de la ortiga, *Urtica dioica*, y los niveles de excreción de sodio en *Rattus rattus albinus*" Revista científica del Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal. Universidad Nacional de Trujillo. Volumen 34, Numero 1. 2014.
15. Naranjo A. "Evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Cultivada en pomona pastaza" [Tesis para la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico] Escuela superior politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia. Ecuador. 2013.
16. Alviz A. "Efecto diurético agudo de los extractos etanólico y acuoso de *Ceratopteris pteridoides* (Hook) en ratas normales" Revista Biomedica del instituto nacional de salud. Vol. 33, Núm. 1).2013.
17. Martínez S. "Evaluación diurética del producto natural Noni-C (*Morinda citrifolia* L.) En un modelo experimental en ratas". Revista Cubana de Plantas Medicinales, Volumen 12 Numero.4. 2012
18. Daud A. "Actividad diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis* Bitter (queñoa)". Revista Cubana Plantas Medicinales Vol.12 n.4 Ciudad de la Habana oct. dic. 2007.
19. Ramírez, J. "Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas" Revista Biomedica del instituto nacional de salud. Vol. 26, Núm. 1. 2006
20. Hernán J. "Efecto diurético de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas" Revista Biomedica del instituto nacional de salud. 2005
21. Jiménez L. "Efecto diurético de *Xanthium strumarium* L (Guizajo de Caballo)" Rev. Cubana de plantas medicinales; 4(1):22-5. 1999.

22. Hernández Gálvez, Julio Luis. "Estudio del Efecto Diurético de la hoja de Cimbopogon Cytratus en modelo de ratas" Revista Cubana Plantas Medicinales. 1998.
23. Sosa, R. El poder medicinal de las plantas. Única edición. Asociación Pública Interamericana. Madrid (España), pp 248-249. 1988.
24. Ocampo, R.; Martínez, J.; Cáceres, A. Manual de agrotecnología de plantas medicinales Nativas. Primera edición. Guatemala. pp. 114-119. 2000
25. Bezanger B. Vademécum de prescripción plantas medicinales, Tercera edición. Fitoterapia. Masson, S.A. Barcelona, España. pp. 125-126. 1998
- 26.- Bertram G. Katzung, A. J. Trevor. Farmacología básica y clínica, 13e. Capítulo 15 Página 241. 2008.
27. *Remington*. Farmacia, 20ª edición, Editorial Medica Panamericana, Bs Aires. Volumen 2. 2003.
28. Cáceres, A.; Martínez, J; Bernal, H. Fundamentos de Agrotecnología de cultivo de plantas medicinales Iberoamericanas, primera edición. "CAB-CYTED-Santa Fé de Bogotá. Colombia. pp. 349-346. 2000
29. Godman Gilman, A. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Volumen I, Editorial Mac Graw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México, D.F. México, 2001.
30. Guyton, A. C. Tratado de Fisiología Médica. Editorial Mac Graw-Hill / Interamericana de España, S, A. Madrid, España. 2001.
31. Lorenzo, P.; Moreno, A.; Leza, J.C.; Lizasoain; Velásquez. Farmacología Básica y Clínica.17. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. 2004
32. Kuklinski, C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona, Omega 515p. 2000.
33. Metodo Domínguez. Métodos de investigación fitoquímica, Editorial Limusa, México, pág. 229-237. 1973.
34. Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Fondo Editorial de la Universidad Católica del Perú. Lima. 1994.
35. Moncayo, S., Santos A. "Determinación preliminar de fitoconstituyentes presentes en las hojas de Rumex crispus L. (lengua de vaca), procedente del distrito de Otuzco La Libertad". Tesis para optar el grado de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de Trujillo. 2012.


ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia

TITULO: “ACTIVIDAD DIURETICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LOS RIZOMAS DE <i>POLYPODIUM PICNOCARPUM</i> (Calaguala) EN RATAS ALBINAS”								
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	DIMENSIONES	ITEM	INSTRUMENTO	INDICADORES	ESCALA	METODOLOGIA
¿El extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) presentará actividad diurética en ratas albinas?	Determinar la actividad diurética el extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) en ratas albinas	El extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) presenta actividad diurética en ratas albinas.	Ensayos de evaluación Macroscópica	RIZOMAS DE <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala)	Ficha Taxonómica	Forma Color Tamaño Textura Consistencia	(si – no) (si – no) (si – no) (si – no) (si – no)	Diseño Cuasi Experimental in vivo Tipo: Analítico descriptivo Nivel: Correlacional Población y muestra: Rizomas de calaguala Ratas albinas Instrumentos de recolección de datos: Ficha de recolección de datos Instrumentos Reactivos Materiales de laboratorio Estufas Lámpara ultravioleta Jaulas Probetas embudos Técnica: método de Naik y Col modificado Procesamiento y análisis de datos:
			Identificación Física	Solubilidad	Sistema de Solventes	Grado de solubilidad	Poco soluble) (Soluble) (Muy soluble)	
			Identificación Química	Flavonoides Fenoles Taninos Saponinas Leucoantioc. Lactonicos Triterpenos Quinonas Alcaloides	Rx de Shinoda Rx de FeCl ₃ Rx de Proteinas Met. de Espuma Rx de Rosenheim Rx de Legal Rx de Liebermann Rx de Borntranger Rx de Dragendorff –Mayer	Rojiza Azul, Verde Blanco Espuma Rojo Verde, Azul Rojo en fase H ₂ O Anaranjado-Blanco- Crema	(+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -)	
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVO ESPECIFICO	HIPOTESIS ESPECIFICA	DIMENSIONES	ITEM	INSTRUMENTO	INDICADORES	ESCALA	
¿Qué metabolitos presenta el extracto hidroalcohólico de los Rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala)?	Identificar los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala)	El extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) presenta metabolitos secundarios que se pueden definir mediante	Actividad Diurética	método de Naik y Col	Ficha de recopilación de datos	% de diuresis con respecto al blanco % de diuresis con respecto al tratamiento	%	
¿Cuál es la	Determinar la							

<p>concentración efectiva del extracto hidroalcohólico en los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) en la cual se presenta el efecto diurético esperado?</p> <p>¿Cuál es la dosis letal media del extracto hidroalcohólico de los rizomas <i>Polypodium Picnocarpum</i> (Calaguala)?</p> <p>¿Cómo es la toxicidad oral a dosis repetidas del extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium Picnocarpum</i>(C alaguala)</p>	<p>dosis efectiva del extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) en la cual se presenta el efecto diurético esperado</p> <p>Determinar la dosis letal del extracto hidroalcohólico de los rizoma de <i>Polypodium Picnocarpum</i> (Calaguala)</p> <p>Determinar la toxicidad oral a dosis repetidas del extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium Picnocarpum</i> (Calaguala)</p>	<p>su perfil fitoquímico.</p> <p>La dosis efectiva del extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) presenta el efecto diurético esperado en la muestra de ratas albinas.</p> <p>La dosis letal media del extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium picnocarpum</i> (Calaguala) en la muestra de ratas albinas es DL50.</p> <p>La toxicidad oral a dosis repetidas del extracto hidroalcohólico de los rizomas de <i>Polypodium Picnocarpum</i> (Calaguala) se presenta en la muestra de ratas albinas.</p>						<p>SPSS y ANOVA simple (una vía)</p>
---	---	---	--	--	--	--	--	--------------------------------------

Anexo 2: Ficha taxonómica

  UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES Y POSTGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 394-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rizoma) recibida por Norma Jara Mory, estudiante de la universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como *Calahuala*, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1966)

CLASE: POLYPODIOPSIDA/PTERIDOPSIDA

ORDEN: POLYPODIALES

FAMILIA: POLYPODIACEAE

SUBFAMILIA: POLYPODIOIDEAE

GÉNERO: *Campyloneurum*


ESPECIE: *C. angustifolium*


Nombre popular español: "Calahuala, calaguala"

Determinado por: Bigo Severo Baldeón Malpartida


Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere pertinente.

Lima, 23 de octubre de 2018




Bigo. Jasmin Opisso Mejía
JEFE (E) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Anexo 3: Informe de adquisición de ratas albina para trabajo experimental



MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
 CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
 CENTRAL TELEFÓNICA : 511-7430000 / 511-7431111
 PÁGINA WEB : www.ins.gob.pe
 Oficina de Ventas:
 JESUS MARA: Av Capatzen Yupanqui N° 1400 (Frente al HNERM)
 Anexo 2116
 CHORRILLOS : Av Defensores del Mito (Ex Huaylas) N° 2266
 Anexos 1550 / 1397 - Chorrillos - Lima - LIMA
 E-mail: ventas_insi@ins.gob.pe

R.U.C. 20131263130

GUIA DE REMISION
REMITENTE

004- N°0035173

Lima de _____ de _____

Señor (es): _____

Dirección: _____

R.U.C. _____

Referencia: _____

Transportista (Sr.): _____

Dirección: _____


R.U.C. _____ Placa: _____

MOTIVO DE TRASLADO: 1. Venta ☐ 2. Compra ☐ 3. Transformación ☐ 4. Consignación ☐ 5. Devolución ☐
 6. Traslado entre establecimientos de una misma empresa ☐ 7. Traslado por emisor liberante de comprobante de pago ☐ 8. Otros ☐

Remitimos a Ud. en perfectas condiciones lo siguiente:

CANTIDAD	DOSIS	UNIDAD MEDIDA	DESCRIPCION	P. UNITARIO S/.	TOTAL S/.
1.00		TRITADO	ALIMENTO ALIMENTO 1 25 GR. A NAFI	4.93	4.93
1.00		ALUS	Alimento balanceado para Ratones y Ratas	3.18	3.18
1.00		SOLEA	VIENTA DE MADERA ESPECIAL 1 1 1/2	3.95	3.95
(COSTO VENTAS Y 17.100 S/.)					16.06
					16.92
					19.97

NETA GRAFICA Y SERVICIOS S.A.C.
 R.U.C. 20420131700
 SSRI 001 DEL 10.001 AL 07.000
 FI. 23.10.2017 AUT. N° 040094021



Equipo de Gestión de Ventas
 Oficina Ejecutiva de Control
 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

RECIBI CONFORME

Una vez aceptada y recibida la mercadería, no se aceptan cambios ni devoluciones.

DESTINATARIO

Gracias por su Compra

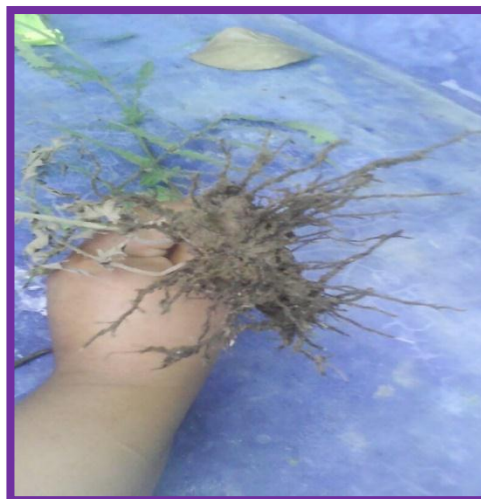
Anexo N°4: Recolección de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala).



Ubicación de la especie vegetal *Polypodium picnocarpum* (Calaguala).



Recojo de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala).





Lavado de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala).



Anexo N°5: Preparación del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala).



Pesado de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala) 300 g).



Rayado de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala).



Elaboración de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala) con alcohol de 70°



Macerado de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala) por 7 días.



Anexo N°6: Filtrado del extracto hidroalcohólico de los rizomas de Calaguala.

Proceso del filtrado del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala).



Anexo N°7: Secado del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala).



Evaporación y secado del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *polypodium picnocarpum* (Calaguala) en la estufa.



Obtención de la muestra seca del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *polypodium picnocarpum* (Calaguala) para dar inicio la prueba de solubilidad.



Anexo N°8: Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de los rizomas de Calaguala



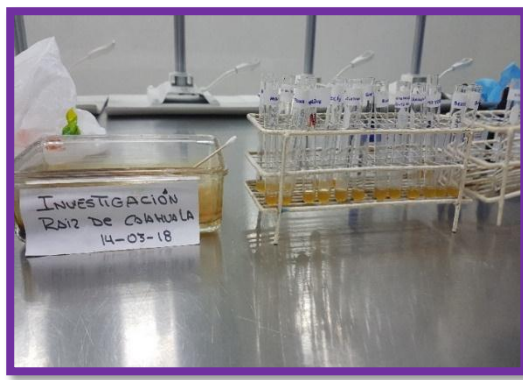
Inicio de la prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de los rizomas de polypodium picnocarpum (Calaguala).



Resultado final de la prueba de solubilidad a los diferentes solventes utilizados



Anexo N°9: Macha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de los rizomas de Calaguala



Inicio de la marcha fitoquímica para determinar la presencia de metabolitos en los rizomas de polypodium picnocarpum (Calaguala).



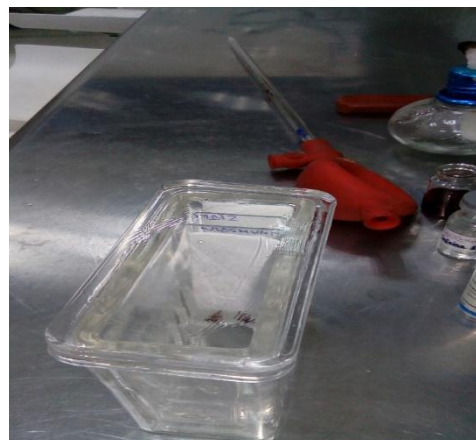
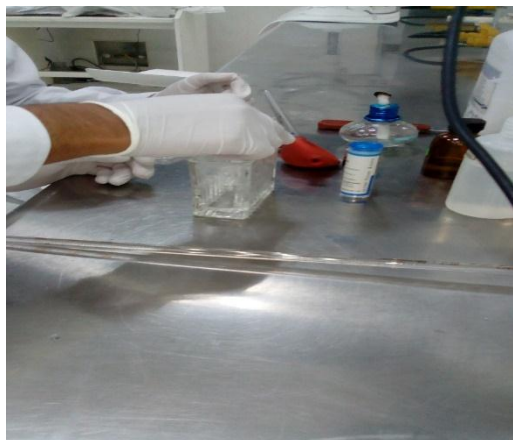


Resultados de la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnocarpum* (Calaguala).

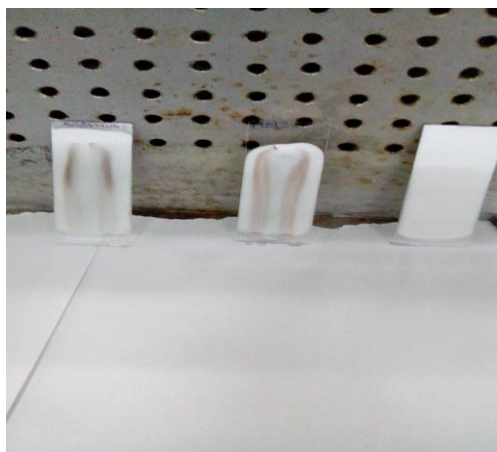


Determinación de los metabolitos presentes del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *polypodium picnocarpum* (Calaguala) mediante la marcha fitoquímica.

Anexo N°11: Cromatografía del extracto hidroalcohólico de los rizomas de *Polypodium picnarpum* (Calaguala) en capa fina, para determinar alcaloides y flavonoides.



Identificación y revelación de alcaloides utilizando el H_2SO_4 y el reactivo de DRAGUENDORFF.



Identificación y revelación de flavonoides utilizando el $ALCL_3$.



Anexo Nº12: Actividad diurética en ratas albinas



Animales de experimento seleccionados.



Separación de grupos para la investigación.



Acondicionamiento para la administración del extracto.



Administración por vía oral del extracto.



Acondicionamiento en jaulas metabólicas.



Determinación de la actividad diurética.